



Rx Only

cobas[®] HCV

Test quantitativo degli acidi nucleici per l'uso sui cobas[®] 5800/6800/8800 Systems

Per uso diagnostico *in vitro*

cobas[®] HCV

P/N: 09040765190

Per l'utilizzo sul sistema cobas[®] 5800

cobas[®] HBV/HCV/HIV-1 Control Kit

P/N: 09040773190

cobas[®] NHP Negative Control Kit

P/N: 09051554190

Per l'utilizzo sui sistemi cobas[®] 6800/8800

cobas[®] HBV/HCV/HIV-1 Control Kit

P/N: 06997767190 oppure
P/N: 09040773190

cobas[®] NHP Negative Control Kit

P/N: 07002220190 oppure
P/N: 09051554190

Indice generale

Uso previsto	5
Riassunto e spiegazione del test.....	5
Reagenti e materiali	8
Reagenti e controlli cobas ® HCV.....	8
Reagenti cobas omni per la preparazione dei campioni.....	11
Requisiti per la conservazione dei reagenti.....	12
Requisiti per la manipolazione dei reagenti per il cobas ® 5800 System	12
Requisiti per la manipolazione dei reagenti per i cobas ® 6800/8800 Systems.....	13
Altri materiali necessari per il cobas ® 5800 System	14
Altri materiali necessari per i cobas ® 6800/8800 Systems	14
Strumentazione e software necessari.....	15
Precauzioni e requisiti per l'uso.....	16
Avvertimenti e precauzioni.....	16
Manipolazione dei reagenti.....	16
Buone pratiche di laboratorio.....	17
Prelievo, trasporto e conservazione dei campioni	18
Campioni.....	18
Istruzioni per l'uso.....	19
Note sulla procedura.....	19
Esecuzione del test cobas ® HCV sul cobas ® 5800 System	20
Esecuzione del test cobas ® HCV sui cobas ® 6800/8800 Systems.....	21

Risultati	22
Controllo di qualità e validità dei risultati sul cobas ® 5800 System	22
Risultati dei controlli sul cobas ® 5800 System.....	22
Controllo di qualità e validità dei risultati sui cobas ® 6800/8800 Systems	22
Avvisi dei controlli sui cobas ® 6800/8800 Systems.....	23
Interpretazione dei risultati	24
Interpretazione dei risultati sul cobas ® 5800 System	24
Interpretazione dei risultati sui cobas ® 6800/8800 Systems.....	25
Limiti della procedura	25
Valutazione delle prestazioni non cliniche	25
Caratteristiche delle prestazioni chiave sui cobas ® 6800/8800 Systems	25
Limite di sensibilità (LoD).....	25
Intervallo lineare	28
Precisione intra-laboratorio	30
Verifica del genotipo	33
Specificità.....	35
Specificità analitica	35
Specificità analitica e sostanze interferenti.....	36
Correlazione tra i metodi.....	38
Equivalenza tra matrici - plasma EDTA e siero.....	39
Tasso globale d'errore del sistema	39
Contaminazione crociata.....	39

Valutazione delle prestazioni cliniche	40
Variabilità tra lotti e riproducibilità.....	40
Variabilità tra lotti.....	40
Riproducibilità.....	43
Confronto tra i cobas ® 6800 System e i cobas ® 8800 System - Variabilità tra lotti e riproducibilità	45
Utilità clinica.....	45
Previsione della risposta alla terapia antivirale.....	47
Confronto tra i cobas ® 6800 System e i cobas ® 8800 System - Utilità clinica	49
Utilità diagnostica.....	50
Reattività crociata nei soggetti con epatopatie non correlate all'HCV	51
Confronto tra i cobas ® 6800 System e i cobas ® 8800 System - Diagnosi	54
Conclusioni	54
Equivalenza dei sistemi / confronto tra sistemi.....	55
Informazioni supplementari.....	55
Caratteristiche del test	55
Simboli.....	56
Assistenza tecnica.....	57
Produttore e importatore	57
Marchi e brevetti.....	57
Copyright.....	57
Bibliografia	58
Revisione del documento	60

Uso previsto

Il test cobas® HCV consente l'amplificazione *in vitro* degli acidi nucleici sia per la rilevazione, sia per la quantificazione dell'RNA del virus dell'epatite C (HCV), genotipi 1-6, in siero o in plasma umano con EDTA prelevati a soggetti infetti da HCV.

cobas® HCV è destinato all'uso come ausilio per la diagnosi dell'infezione da HCV nelle seguenti popolazioni: soggetti con evidenza di anticorpo anti-HCV e con evidenza di patologia epatica; soggetti con sospetta infezione attiva e con evidenza di anticorpo anti-HCV; soggetti a rischio di infezione da HCV con anticorpi anti-HCV. La rilevazione dell'RNA di HCV indica che il virus si sta replicando e dimostra pertanto che è in atto un'infezione.

Il test è destinato all'uso per la gestione dei pazienti con HCV cronica, contestualmente ad altri marker dell'infezione di tipo clinico e di laboratorio. Il test può essere usato per prevedere precocemente la probabilità di risposta virologica sostenuta (*Sustained Virologic Response*, SVR) nel corso di una terapia antivirale e per valutare la risposta virale al trattamento antivirale (terapia guidata dalla risposta), che viene misurata in base alle variazioni dei livelli di RNA di HCV nel siero o nel plasma EDTA. I risultati devono essere interpretati contestualmente a tutti i dati clinici correlati e ai riscontri di laboratorio.

Riassunto e spiegazione del test

Premessa

Il virus dell'epatite C (HCV) è considerato il principale agente eziologico nel 90-95% dei casi di epatite post-trasfusionale.¹⁻⁴ L'HCV è un virus a RNA a senso positivo, a filamento singolo, con un genoma composta da circa 9500 nucleotidi codificanti per 3000 aminoacidi. Essendo un virus ematogeno, l'HCV può essere trasmesso dal sangue e dagli emoderivati. L'ampia adozione di misure di screening del sangue per l'HCV ha abbassato in modo significativo il rischio di epatite associata a trasfusione. L'incidenza dell'infezione da HCV raggiunge i livelli massimi quando è associata all'abuso di stupefacenti per via endovenosa e, in misura minore, ad altre esposizioni percutanee.⁴

La quantificazione dell'RNA di HCV, per la misurazione delle cariche virali di partenza e per il monitoraggio in corso di trattamento, è un metodo valido riconosciuto per dimostrare l'efficacia della risposta antivirale alla terapia combinata con interferone pegilato (PegIFN) e ribavirina (RBV).⁵⁻⁹ Le attuali linee guida per la gestione e il trattamento dell'HCV^{10,11} suggeriscono di eseguire l'analisi quantitativa dell'RNA di HCV prima di iniziare la terapia antivirale, a intervalli precisi durante la terapia guidata dalla risposta (*Response-Guided Therapy*: RGT) e a distanza di 12 o più settimane dalla fine della terapia.

L'assenza dell'RNA di HCV, confermata con un test sensibile eseguito 12 settimane dopo la fine del trattamento, è l'obiettivo della terapia e indica il raggiungimento di una risposta virologica sostenuta (*Sustained Virologic Response*: SVR).¹⁰

La determinazione della cinetica virale durante la terapia consente una maggiore personalizzazione della durata del trattamento con gli agenti antivirali ad azione diretta (*Direct-acting Antiviral Agents*: DAA), approvato più di recente, che sono gli inibitori della proteasi telaprevir e boceprevir.¹²⁻¹⁵

Perché utilizzare i test dell'HCV

In previsione di uno sviluppo massiccio e dinamico di nuove terapie farmacologiche contro l'HCV, il monitoraggio della carica virale continuerà ad essere il principale test di laboratorio per confermare il raggiungimento dell'obiettivo SVR con i farmaci DAA, ad esempio gli inibitori della proteasi di seconda generazione, gli inibitori nucleosidici della polimerasi di HCV e gli altri meccanismi ad azione antivirale.¹⁶⁻¹⁹

In sintesi, il test **cobas**® HCV per l'uso sui **cobas**® 5800/6800/8800 Systems è un esame quantitativo dell'RNA di HCV e della cinetica virale, destinato all'uso nei laboratori di supporto ai trial clinici e nella gestione dei pazienti con HCV nella pratica clinica di routine.

Spiegazione del test

Il test quantitativo **cobas**® HCV viene eseguito sul **cobas**® 5800 System, sul **cobas**® 6800 System o **cobas**® 8800 System. Il test **cobas**® HCV consente di rilevare e quantificare l'RNA di HCV nei campioni di plasma EDTA o di siero dei pazienti infetti. Le sonde doppie consentono di rilevare e quantificare, ma non di discriminare, i genotipi 1-6. La carica virale viene quantificata rispetto a uno standard di quantificazione costituito da Armored RNA non HCV (RNA-QS), che viene introdotto in ogni campione nella fase di preparazione dei campioni. L'RNA-QS funge inoltre da controllo interno per monitorare l'intero processo di preparazione dei campioni e amplificazione PCR. Il test utilizza inoltre tre controlli esterni: un titolo positivo alto, un titolo positivo basso e un controllo negativo. I controlli esterni positivo alto e positivo basso vengono prodotti diluendo il materiale stock tracciabile allo standard internazionale dell'OMS per l'HCV. La calibrazione di ogni lotto del kit di amplificazione/rilevazione è tracciabile allo standard internazionale dell'OMS per l'HCV.

Principi della procedura

Il test **cobas**® HCV si basa su una procedura completamente automatizzata per la preparazione dei campioni (estrazione e purificazione degli acidi nucleici), seguita da amplificazione e rilevazione mediante PCR. Il **cobas**® 5800 System è progettato come strumento unico integrato. I **cobas**® 6800/8800 Systems sono costituiti dal modulo di inserimento dei campioni, dal modulo di trasferimento, dal modulo di preparazione e dal modulo analitico. La gestione automatica dei dati è svolta dal software del **cobas**® 5800 System o dei **cobas**® 6800/8800 Systems, che assegna i seguenti risultati dei test: "Target not detected" (Target non rilevato), "< LLoQ" (minore del limite inferiore di quantificazione), "> ULoQ" (maggiore del limite superiore di quantificazione) o "HCV RNA detected" (RNA di HCV rilevato), un valore compreso nell'intervallo lineare $LLoQ < x < ULoQ$. I risultati possono essere visualizzati direttamente sullo schermo del sistema, esportati o stampati in un report PDF.

Gli acidi nucleici ottenuti dai campioni dei pazienti, dai controlli esterni e dalle molecole di Armored RNA-QS vengono estratti simultaneamente. In sintesi, gli acidi nucleici virali vengono liberati con l'aggiunta della proteinasi e del reagente di lisi nel campione. L'acido nucleico liberato si lega quindi alla superficie di silice delle biglie di vetro magnetiche aggiunte. Le sostanze che non formano legami e le impurità (ad esempio le proteine denaturate, i detriti cellulari e i potenziali inibitori della PCR) vengono rimosse con il tampone di lavaggio nei passaggi successivi e l'acido nucleico purificato viene eluito dalle biglie di vetro magnetiche con il tampone di eluizione a temperature elevate.

È possibile ottenere l'amplificazione selettiva dell'acido nucleico target estratto dal campione utilizzando dei primer forward e reverse virus-specifici, che vengono selezionati da regioni altamente conservate del genoma dell'HCV.

È possibile ottenere l'amplificazione selettiva dello standard RNA-QS utilizzando dei primer forward e reverse sequenza-specifici, che vengono selezionati in modo tale da non presentare nessuna omologia con il genoma dell'HCV. Un enzima DNA polimerasi termostabile viene utilizzato sia per la trascrizione inversa che per l'amplificazione PCR. Le sequenze del

target virale e dello standard RNA-QS vengono amplificate simultaneamente, utilizzando un profilo di amplificazione PCR universale con valori predefiniti per temperatura e numero di cicli. La soluzione Master Mix contiene trifosfato di deossiuridina (dUTP) anziché trifosfato di deossitimidina (dTTP), che è incorporato nel DNA appena sintetizzato (amplicone).²⁰⁻²² Tutti gli ampliconi contaminanti che sono stati prodotti da sessioni di PCR precedenti vengono eliminati dall'enzima AmpErase, che è contenuto nella miscela per PCR, durante il primo passaggio del ciclo termico. Gli ampliconi che si sono appena formati non vengono invece eliminati perché l'enzima AmpErase si inattiva dopo l'esposizione a temperature superiori a 55°C.

La soluzione Master Mix **cobas**® HCV contiene due sonde di rilevazione specifiche per le sequenze target di HCV e una sonda specifica per l'RNA-QS. Le sonde sono marcate con fluorocromi reporter specifici per i target, in modo da consentire la rilevazione simultanea del target HCV e del RNA-QS in due diversi canali.^{23,24} Quando non è legato alla sequenza target, il segnale fluorescente della sonda intatta viene soppresso dal fluorocromo quencher. Nella fase di amplificazione mediante PCR, l'ibridizzazione delle sonde con lo stampo specifico di DNA a filamento unico determina la scissione della sonda ad opera dell'attività nucleasica in direzione 5'→3' della DNA polimerasi, con la conseguente separazione dei fluorocromi reporter e quencher e la produzione di un segnale fluorescente. Ad ogni ciclo di PCR vengono generate quantità crescenti di sonde scisse e, in concomitanza, il segnale cumulativo del fluorocromo reporter aumenta. È possibile ottenere la rilevazione real-time e la discriminazione dei prodotti della PCR misurando la fluorescenza dei fluorocromi reporter liberati, che rappresentano rispettivamente i target virali e l'RNA-QS.

Reagenti e materiali

Reagenti e controlli cobas® HCV

Tutti i reagenti e i controlli non ancora aperti devono essere conservati rispettando le condizioni indicate dalla Tabella 1 alla Tabella 4.

Tabella 1 cobas® HCV

cobas® HCV

Conservare a 2-8°C

Cassetta per 192 test (P/N 09040765190)

Componenti del kit	Ingredienti dei reagenti	Quantità per kit 192 test
Soluzione proteinasi (PASE)	Tampone Tris, < 0,05% EDTA, cloruro di calcio, acetato di calcio, 8% proteinasi (p/v) EUH210: Scheda dati di sicurezza disponibile su richiesta. EUH208: Può provocare una reazione allergica. Contiene: subtilisina, 9014-01-1	22,3 ml
Standard di quantificazione RNA (RNA-QS)	Tampone Tris, < 0,05% EDTA, < 0,001% Costrutto di Armored RNA non correlato ad HCV contenente regioni di sequenze di legame specifiche per primer e sonda (RNA non infettivo in batteriofago MS2), < 0,1% sodio azide	21,2 ml
Tampone di eluizione (EB)	Tampone Tris, 0,2% metil-4 idrossibenzoato	21,2 ml
Master Mix Reagente 1 (MMX-R1)	Acetato di manganese, idrossido di potassio, < 0,1% sodio azide	7,5 ml
HCV Master Mix Reagente 2 (HCV MMX-R2)	Tampone tricina, acetato di potassio, 18% dimetilsolfossido, glicerolo, < 0,1% Tween 20, EDTA, < 0,12% dATP, dCTP, dGTP e dUTP, < 0,01% primer upstream e downstream di HCV, < 0,01% primer forward e reverse QS, < 0,01% sonde oligonucleotidiche fluorescenti specifiche per HCV e per QS di HCV, < 0,01% aptamero oligonucleotidico, < 0,01% DNA polimerasi Z05D, < 0,1% enzima AmpErase (uracil-N-glicosilasi) (batterico), < 0,1% sodio azide	9,7 ml

Tabella 2 cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit**cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit**

Conservare a 2-8°C

Per l'utilizzo sul sistema **cobas®** 5800 (P/N 09040773190)Per l'utilizzo sui sistemi **cobas®** 6800/8800 (P/N 06997767190 e P/N 09040773190)

Componenti del kit	Ingredienti dei reagenti	Quantità per kit	Simbolo di sicurezza e avvertimento*
Controllo positivo basso HBV/HCV/HIV-1 (HBV/HCV/HIV-1 L(+))C)	< 0,001% RNA di HIV-1 gruppo M incapsulato in proteina di rivestimento del batteriofago MS2, < 0,001% DNA sintetico (plasmide) di HBV incapsulato in proteina di rivestimento del batteriofago Lambda, < 0,001% RNA sintetico (Armored) di HCV incapsulato in proteina di rivestimento del batteriofago MS2, plasma umano normale, non reattivo in base ai test brevettati per gli anticorpi anti-HCV, anti-HIV-1/2, HBsAg, anti-HBc; RNA di HIV-1, RNA di HIV-2, RNA di HCV e DNA di HBV non rilevabili con i metodi PCR 0,1% conservante ProClin® 300**	5,2 ml (8 × 0,65 ml)	 <p>AVVERTIMENTO</p> <p>H317: Può provocare una reazione allergica cutanea. H412 Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata. P261: Evitare di respirare la polvere/i fumi/i gas/ la nebbia/i vapori/gli aerosol. P273: Non disperdere nell'ambiente. P280: Indossare guanti protettivi. P333 + P313: In caso di irritazione o eruzione della pelle: consultare un medico. P362 + P364: Togliere tutti gli indumenti contaminati e lavarli prima di indossarli nuovamente. P501: Smaltire il prodotto/recipiente in un impianto d'eliminazione dei rifiuti autorizzato. 55965-84-9 Massa di reazione di: 5-cloro-2-metil-4-isotiazolin-3-one [N. CE 247-500-7] e 2-metil-2H-isotiazol-3-one [N. CE 220-239-6] (3:1).</p>
Controllo positivo alto HBV/HCV/HIV-1 (HBV/HCV/HIV-1 H(+))C)	< 0,001% RNA sintetico (Armored), ad alto titolo, di HIV-1 gruppo M incapsulato in proteina di rivestimento del batteriofago MS2, < 0,001% DNA sintetico (plasmide) di HBV incapsulato in proteina di rivestimento del batteriofago Lambda, < 0,001% RNA sintetico (Armored) di HCV incapsulato in proteina di rivestimento del batteriofago MS2, plasma umano normale, non reattivo in base ai test brevettati per gli anticorpi anti-HCV, anti-HIV-1/2, HBsAg, anti-HBc; RNA di HIV-1, RNA di HIV-2, RNA di HCV e DNA di HBV non rilevabili con i metodi PCR 0,1% conservante ProClin® 300**	5,2 ml (8 × 0,65 ml)	 <p>AVVERTIMENTO</p> <p>H317: Può provocare una reazione allergica cutanea. P261: Evitare di respirare la polvere/i fumi/i gas/ la nebbia/i vapori/gli aerosol. P272: Gli indumenti da lavoro contaminati non devono essere portati fuori dal luogo di lavoro. P280: Indossare guanti protettivi. P333 + P313: In caso di irritazione o eruzione della pelle: consultare un medico. P362 + P364: Togliere tutti gli indumenti contaminati e lavarli prima di indossarli nuovamente. P501: Smaltire il prodotto/recipiente in un impianto d'eliminazione dei rifiuti autorizzato. 55965-84-9 Massa di reazione di: 5-cloro-2-metil-4-isotiazolin-3-one [N. CE 247-500-7] e 2-metil-2H-isotiazol-3-one [N. CE 220-239-6] (3:1).</p>

* L'etichettatura per la sicurezza dei prodotti è conforme principalmente alle indicazioni GHS dell'Unione Europea.

** Sostanza pericolosa.

Tabella 3 cobas® NHP Negative Control Kit**cobas® NHP Negative Control Kit**

Conservare a 2-8°C

Per l'utilizzo sul sistema **cobas®** 5800 (P/N 09051554190)Per l'utilizzo sui sistemi **cobas®** 6800/8800 (P/N 07002220190 e P/N 09051554190)

Componenti del kit	Ingredienti dei reagenti	Quantità per kit	Simbolo di sicurezza e avvertimento*
Controllo negativo di plasma umano normale (NHP-NC)	Plasma umano normale, non reattivo ai test brevettati per gli anticorpi anti-HCV, anti-HIV-1/2, anti-HBc e antigene HBsAg; RNA di HIV-1, RNA di HIV-2, RNA di HCV e DNA di HBV non rilevabili con i metodi PCR < 0,1% conservante ProClin® 300**	16 ml (16 × 1 ml)	  AVVERTIMENTO H317: Può provocare una reazione allergica cutanea. P261: Evitare di respirare la polvere/i fumi/i gas/ la nebbia/i vapori/gli aerosol. P272: Gli indumenti da lavoro contaminati non devono essere portati fuori dal luogo di lavoro. P280: Indossare guanti protettivi. P333 + P313: In caso di irritazione o eruzione della pelle: consultare un medico. P362 + P364: Togliere tutti gli indumenti contaminati e lavarli prima di indossarli nuovamente. P501: Smaltire il prodotto/recipiente in un impianto d'eliminazione dei rifiuti autorizzato. 55965-84-9 Massa di reazione di: 5-cloro-2-metil-4-isotiazolin-3-one [N. CE 247-500-7] e 2-metil-2H-isotiazol-3-one [N. CE 220-239-6] (3:1).

* L'etichettatura per la sicurezza dei prodotti è conforme principalmente alle indicazioni GHS dell'Unione Europea.

** Sostanza pericolosa.

Reagenti cobas omni per la preparazione dei campioni

Tabella 4 Reagenti **cobas omni** per la preparazione dei campioni*

Reagenti	Ingredienti dei reagenti	Quantità per kit	Simbolo di sicurezza e avvertimento**
cobas omni MGP Reagent (MGP) Conservare a 2-8°C (P/N 06997546190)	Biglie di vetro magnetiche, tampone Tris, 0,1% metil-4 idrossibenzoato, < 0,1% sodio azide	480 test	Non applicabile
cobas omni Specimen Diluent (SPEC DIL) Conservare a 2-8°C (P/N 06997511190)	Tampone Tris, 0,1% metil-4 idrossibenzoato, < 0,1% sodio azide	4 × 875 ml	Non applicabile
cobas omni Lysis Reagent (LYS) Conservare a 2-8°C (P/N 06997538190)	43% (p/p) guanidina tiocianato***, 5% (p/v) polidocanolo***, 2% (p/v) ditiotreitolo***, citrato di sodio diidrato	4 × 875 ml	 <p>PERICOLO</p> <p>H302 + H332: Nocivo se ingerito o inalato.</p> <p>H314: Provoca gravi ustioni cutanee e gravi lesioni oculari.</p> <p>H412: Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata.</p> <p>EUH032: A contatto con acidi libera gas molto tossici.</p> <p>P261: Evitare di respirare la polvere/i fumi/i gas/la nebbia/ i vapori/gli aerosol.</p> <p>P273: Non disperdere nell'ambiente.</p> <p>P280: Proteggere gli occhi/il viso.</p> <p>P303 + P361 + P353: IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE (o con i capelli): togliere immediatamente tutti gli indumenti contaminati. Sciacquare la pelle.</p> <p>P304 + P340 + P310: IN CASO DI INALAZIONE: trasportare l'infortunato all'aria aperta e mantenerlo a riposo in posizione che favorisca la respirazione. Contattare immediatamente un CENTRO ANTIVELENI/un medico.</p> <p>P305 + P351 + P338 + P310: IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: sciacquare accuratamente per parecchi minuti. Togliere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciacquare. Contattare immediatamente un CENTRO ANTIVELENI/un medico.</p> <p>593-84-0 Guanidina tiocianato 9002-92-0 Polidocanolo 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-dimercapto-2,3-butandiolo</p>
cobas omni Wash Reagent (WASH) Conservare a 15-30°C (P/N 06997503190)	Citrato di sodio diidrato, 0,1% metil-4 idrossibenzoato	4,2 l	Non applicabile

* Questi reagenti non sono inclusi nel kit del test **cobas® HCV**. Consultare l'elenco dei materiali aggiuntivi necessari (Tabella 9).

** L'etichettatura per la sicurezza dei prodotti è conforme principalmente alle indicazioni GHS dell'Unione Europea.

*** Sostanza pericolosa.

Requisiti per la conservazione dei reagenti

I reagenti devono essere conservati e manipolati rispettando le condizioni indicate dalla Tabella 5, Tabella 6 alla Tabella 7.

I reagenti che non sono ancora stati caricati sul **cobas**® 5800 System o sui **cobas**® 6800/8800 Systems devono essere conservati alla temperatura indicata nella Tabella 5.

Tabella 5 Conservazione dei reagenti (non ancora caricati sul sistema)

Reagente	Temperatura di conservazione
cobas ® HCV	2-8°C
cobas ® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit	2-8°C
cobas ® NHP Negative Control Kit	2-8°C
cobas omni Lysis Reagent	2-8°C
cobas omni MGP Reagent	2-8°C
cobas omni Specimen Diluent	2-8°C
cobas omni Wash Reagent	15-30°C

Requisiti per la manipolazione dei reagenti per il **cobas**® 5800 System

Dopo il caricamento sul **cobas**® 5800 System, i reagenti sono conservati alla temperatura appropriata e la loro data di scadenza viene monitorata dal sistema. Il sistema consente l'utilizzo dei reagenti soltanto se sono rispettate tutte le condizioni descritte nella Tabella 6. Il sistema impedisce automaticamente l'uso dei reagenti scaduti. Nella Tabella 6 vengono fornite all'utente informazioni utili sulle condizioni di manipolazione dei reagenti previste per il **cobas**® 5800 System.

Tabella 6 Scadenza dei reagenti sul **cobas**® 5800 System

Reagente	Data di scadenza del kit	Stabilità del kit aperto	Numero di sedute per cui il kit può essere usato	Stabilità a bordo
cobas ® HCV – 192	Data non superata	90 giorni dal primo uso	Max 40 sedute	Max 36 giorni*
cobas ® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit	Data non superata	Non applicabile ^a	Non applicabile	Max 36 giorni*
cobas ® NHP Negative Control Kit	Data non superata	Non applicabile ^a	Non applicabile	Max 36 giorni*
cobas omni Lysis Reagent	Data non superata	30 giorni dal caricamento*	Non applicabile	Non applicabile
cobas omni MGP Reagent	Data non superata	30 giorni dal caricamento*	Non applicabile	Non applicabile
cobas omni Specimen Diluent	Data non superata	30 giorni dal caricamento*	Non applicabile	Non applicabile
cobas omni Wash Reagent	Data non superata	30 giorni dal caricamento*	Non applicabile	Non applicabile

^a Reagenti monouso.

* Il calcolo inizia dalla prima volta che il reagente viene caricato sul **cobas**® 5800 System.

Requisiti per la manipolazione dei reagenti per i cobas® 6800/8800 Systems

Dopo il caricamento sui cobas® 6800/8800 Systems, i reagenti sono conservati alla temperatura appropriata e la loro data di scadenza viene monitorata dal sistema. I cobas® 6800/8800 Systems consentono l'uso dei reagenti solo se sono rispettate tutte le condizioni descritte nella Tabella 7. Il sistema impedisce automaticamente l'uso dei reagenti scaduti. La Tabella 7 fornisce all'utente informazioni utili sulle condizioni di manipolazione dei reagenti previste per i cobas® 6800/8800 Systems.

Tabella 7 Scadenza dei reagenti sui cobas® 6800/8800 Systems

Reagente	Data di scadenza del kit	Stabilità del kit aperto	Numero di sedute per cui il kit può essere usato	Stabilità a bordo (tempo cumulativo a bordo fuori dal frigorifero)
cobas® HCV	Data non superata	90 giorni dal primo uso	Max 40 sedute	Max 40 ore
cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit	Data non superata	Non applicabile ^a	Non applicabile	Max 8 ore
cobas® NHP Negative Control Kit	Data non superata	Non applicabile ^a	Non applicabile	Max 10 ore
cobas omni Lysis Reagent	Data non superata	30 giorni dal caricamento*	Non applicabile	Non applicabile
cobas omni MGP Reagent	Data non superata	30 giorni dal caricamento*	Non applicabile	Non applicabile
cobas omni Specimen Diluent	Data non superata	30 giorni dal caricamento*	Non applicabile	Non applicabile
cobas omni Wash Reagent	Data non superata	30 giorni dal caricamento*	Non applicabile	Non applicabile

^a Reagenti monouso.

* Il calcolo inizia dalla prima volta che il reagente viene caricato sui cobas® 6800/8800 Systems.

Altri materiali necessari per il cobas® 5800 System

Tabella 8 Materiali e consumabili per l'utilizzo sul **cobas® 5800 System**

Materiale	P/N
cobas omni Processing Plate 24	08413975001
cobas omni Amplification Plate 24	08499853001
cobas omni Liquid Waste Plate 24	08413983001
Puntale CORE TIPS con filtro, 1 ml	04639642001
Puntale CORE TIPS con filtro, 300 µl	07345607001
cobas omni Liquid Waste Container	07094388001
cobas omni Lysis Reagent	06997538190
cobas omni MGP Reagent	06997546190
cobas omni Specimen Diluent	06997511190
cobas omni Wash Reagent	06997503190
Sacchetto per rifiuti solidi oppure Sacchetto per rifiuti solidi con inserto	07435967001 oppure 08030073001

Altri materiali necessari per i cobas® 6800/8800 Systems

Tabella 9 Materiali e consumabili per l'uso sui **cobas® 6800/8800 Systems**

Materiale	P/N
cobas omni Processing Plate	05534917001
cobas omni Amplification Plate	05534941001
cobas omni Pipette Tips	05534925001
cobas omni Liquid Waste Container	07094388001
cobas omni Lysis Reagent	06997538190
cobas omni MGP Reagent	06997546190
cobas omni Specimen Diluent	06997511190
cobas omni Wash Reagent	06997503190
Sacchetto per rifiuti solidi e Contenitore per rifiuti solidi oppure Sacchetto per rifiuti solidi con inserto e Kit cassetto	07435967001 e 07094361001 oppure 08030073001 e 08387281001

Strumentazione e software necessari

Il software del **cobas**® 5800 System e il pacchetto di analisi **cobas**® HCV per il **cobas**® 5800 System verranno installati sullo strumento **cobas**® 5800. Il software Data Manager e il PC per il **cobas**® 5800 System verranno forniti con il sistema.

Il software dei **cobas**® 6800/8800 Systems e il pacchetto di analisi **cobas**® HCV per i **cobas**® 6800/8800 Systems verranno installati sugli strumenti. Il server IG (Instrument Gateway) verrà fornito con il sistema.

Tabella 10 Strumentazione

Apparecchiatura	P/N
cobas ® 5800 System	08707464001
cobas ® 6800 System (opzione mobile)	05524245001 e 06379672001
cobas ® 6800 System (fisso)	05524245001 e 06379664001
cobas ® 8800 System	05412722001
Modulo di inserimento dei campioni	06301037001

Per ulteriori informazioni, consultare l'Assistenza Utente o le Guide per l'utente del **cobas**® 5800 System o dei **cobas**® 6800/8800 Systems.

Nota: contattare il rappresentante Roche locale per richiedere un listino dettagliato dei rack per campioni, dei rack per puntali otturati e dei vassoi portarack accettati dagli strumenti.

Precauzioni e requisiti per l'uso

Avvertimenti e precauzioni

Come richiesto per qualsiasi procedura di analisi, per lo svolgimento di questo test è necessario attenersi alle buone pratiche di laboratorio. Data l'elevata sensibilità di questo test, fare attenzione ad evitare la contaminazione dei reagenti e delle miscele di amplificazione.

- Solo per uso diagnostico *in vitro*.
- Il test **cobas**® HCV non è approvato per l'uso come test di screening per la presenza di HCV in sangue ed emoderivati.
- Tutti i campioni dei pazienti devono essere manipolati come materiale a rischio biologico, seguendo le buone procedure di laboratorio descritte in Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories e nel documento M29-A4 del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).^{25,26} Questa procedura deve essere eseguita esclusivamente da personale esperto nella manipolazione di materiale a rischio biologico e nell'uso del test **cobas**® HCV e dei **cobas**® 5800/6800/8800 Systems.
- Tutti i materiali di origine umana devono essere considerati a rischio biologico e quindi manipolati adottando precauzioni universalmente valide. In caso di fuoriuscita accidentale, disinfettare immediatamente l'area con una soluzione fresca a base di ipoclorito di sodio allo 0,5% in acqua distillata o deionizzata (diluire la candeggina domestica 1:10) oppure seguire le procedure previste dal proprio laboratorio.
- I prodotti **cobas**® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit e **cobas**® NHP Negative Control Kit contengono plasma derivato da sangue umano. Il materiale di provenienza è stato analizzato con test degli anticorpi brevettati ed è risultato non reattivo agli anticorpi anti-HCV, anti-HIV-1/2, HBsAg e anti-HBc. I test basati sui metodi PCR eseguiti sul plasma umano normale hanno inoltre confermato l'assenza di RNA dei virus HIV-1 (gruppi M e O), HIV-2 e HCV e DNA del virus HBV. Allo stato attuale, tuttavia, nessun metodo di analisi garantisce con assoluta certezza che i prodotti derivati da sangue umano non trasmettano agenti infettivi.
- **Non congelare il sangue intero o i campioni conservati in tubi primari.**
- Per garantire prestazioni ottimali del test, utilizzare soltanto i consumabili forniti o consigliati.
- Le schede di sicurezza (Safety Data Sheets, SDS) possono essere richieste al rappresentante Roche locale.
- Per un corretto svolgimento del test, attenersi scrupolosamente alle procedure e alle linee guida approvate. Qualunque deviazione dalle procedure e dalle linee guida approvate potrebbe compromettere le prestazioni del test.
- Potrebbero essere generati risultati falsi positivi senza un'adeguata prevenzione dell'effetto carryover durante la manipolazione e la preparazione dei campioni.
- Non utilizzare un campione con un volume iniziale di 200 µl se si prevede una carica virale < 100 UI/ml.
- In caso di un grave incidente verificatosi durante l'uso di questo test, segnalarlo alla propria autorità competente locale.

Manipolazione dei reagenti

- Manipolare tutti i reagenti, i controlli e i campioni seguendo le buone pratiche di laboratorio, al fine di prevenire il carryover dei campioni e dei controlli.
- Prima dell'uso ispezionare visivamente ogni cassetta dei reagenti, del diluente, del reagente di lisi e del reagente di lavaggio per confermare l'assenza di perdite. In caso di perdite accertate, non utilizzare il materiale per il test.

- Il **cobas omni** Lysis Reagent contiene guanidina tiocianato, una sostanza chimica potenzialmente pericolosa. Evitare che i reagenti entrino in contatto con la pelle, gli occhi o le mucose. In caso di contatto, lavare immediatamente con abbondante acqua per prevenire possibili ustioni.
- I kit **cobas® HCV**, **cobas omni** MGP Reagent e **cobas omni** Specimen Diluent contengono sodio azide come conservante. Evitare che i reagenti entrino in contatto con la pelle, gli occhi o le mucose. In caso di contatto, lavare immediatamente con abbondante acqua per prevenire possibili ustioni. In caso di fuoriuscita dei reagenti, diluire il liquido con acqua prima di asciugare.
- Evitare che il **cobas omni** Lysis Reagent, contenente guanidina tiocianato, entri in contatto con la soluzione tiocianato di guanidinio di ipoclorito di sodio (candeggina). L'eventuale miscela potrebbe produrre gas altamente tossici.
- Smaltire tutti i materiali entrati in contatto con i campioni e i reagenti nel rispetto dei regolamenti previsti a livello locale, nazionale e internazionale.

Buone pratiche di laboratorio

- Non pipettare con la bocca.
- Non mangiare, bere o fumare nelle aree di lavoro designate.
- Indossare guanti, camici da laboratorio e protezioni per gli occhi durante la manipolazione dei campioni e dei reagenti del kit. Per prevenire eventuali contaminazioni, è necessario sostituire i guanti durante la manipolazione dei campioni, dei kit **cobas® HCV** e dei reagenti **cobas omni**. Evitare di contaminare i guanti durante la manipolazione dei campioni e dei controlli.
- Lavare accuratamente le mani dopo avere manipolato i reagenti dei kit e dopo aver rimosso i guanti.
- Pulire e disinfettare accuratamente tutte le superfici di lavoro del laboratorio con una soluzione fresca a base di ipoclorito di sodio allo 0,5% e acqua deionizzata o distillata (candeggina per uso domestico diluita 1:10). Successivamente pulire la superficie con etanolo al 70%.
- In caso di fuoriuscite di liquidi sullo strumento **cobas® 5800**, attenersi alle istruzioni contenute nell'Assistenza Utente e/o nella Guida Utente del **cobas® 5800 System** per pulire accuratamente e decontaminare la superficie dello strumento.
- In caso di versamenti di liquidi sullo strumento **cobas® 6800/8800**, attenersi alle istruzioni contenute nella Guida Utente e/o nell'Assistenza Utente dei **cobas® 6800/8800 Systems** per pulire accuratamente e decontaminare la superficie dello strumento o degli strumenti.

Prelievo, trasporto e conservazione dei campioni

Nota: manipolare tutti i campioni e i controlli come se fossero in grado di trasmettere agenti infettivi.

Conservare tutti i campioni alle temperature indicate.

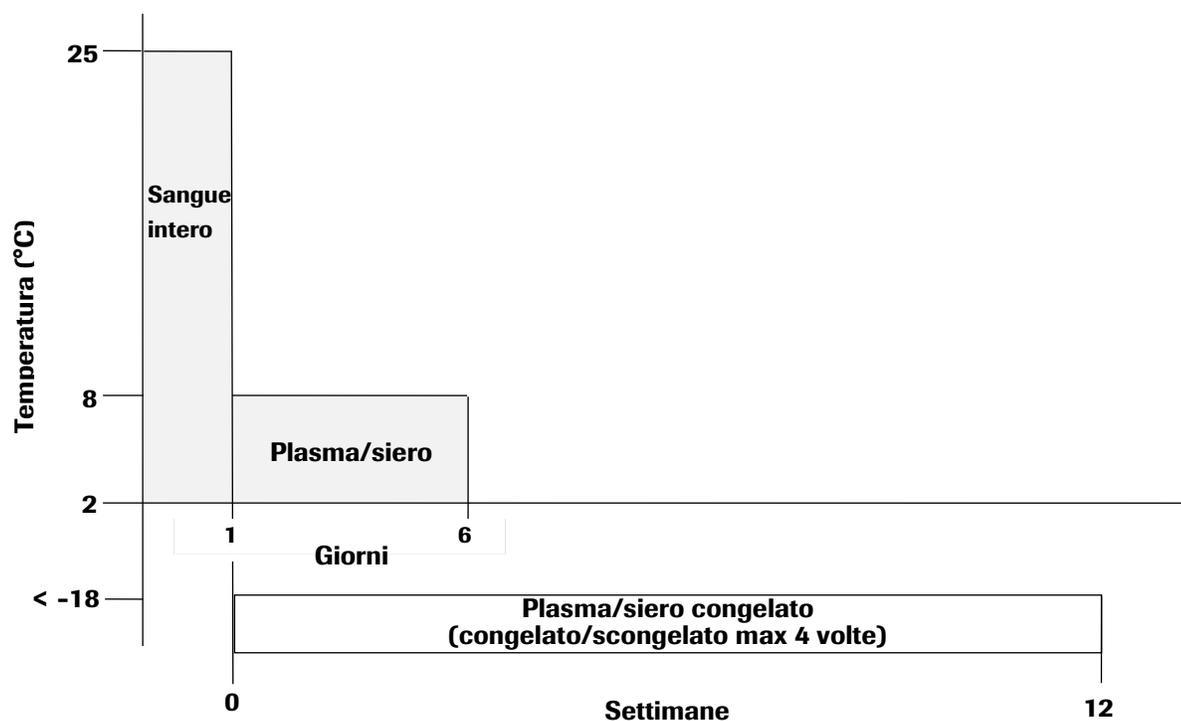
La stabilità dei campioni risente delle temperature elevate.

Se si utilizzano campioni congelati nelle provette secondarie, mantenere i campioni a temperatura ambiente (15-30°C) finché non si saranno scongelati completamente, quindi miscelare brevemente (ad esempio, in vortex per 3-5 secondi) e centrifugare in modo da raccogliere tutto il volume del campione sul fondo della provetta.

Campioni

Raccogliere il sangue nelle provette SST™ per la separazione del siero, o nelle provette BD Vacutainer® PPT™ per la preparazione del plasma per i metodi di analisi di diagnostica molecolare, o in provette sterili con EDTA come anticoagulante. Attenersi alle istruzioni fornite dal produttore delle provette.

- Il sangue intero raccolto nelle provette SST™ destinate alla separazione del siero, nelle provette BD Vacutainer® PPT™ destinate alla preparazione del plasma per le metodiche di analisi di diagnostica molecolare o nelle provette sterili con anticoagulante EDTA può essere conservato e/o trasportato per un massimo di 24 ore a una temperatura compresa tra 2°C e 25°C, prima della preparazione del plasma/siero. Per la centrifugazione, seguire le istruzioni fornite dal produttore.
- Dopo la separazione, i campioni di plasma EDTA o siero possono essere conservati nei tubi secondari per un massimo di 6 giorni tra 2°C e 8°C o 12 settimane a $\leq -18^\circ\text{C}$. Per la conservazione a lungo termine sono consigliate temperature $\leq -60^\circ\text{C}$.
- I campioni di plasma/siero sono stabili per un massimo di quattro cicli di congelamento/scongelo quando sono congelati a $\leq -18^\circ\text{C}$.
- Assicurarsi di prelevare una quantità di sangue intero che consenta di disporre di 500 μl di siero o plasma EDTA per l'analisi (volume minimo del campione: 650 μl).
- Per l'eventuale spedizione, imballare ed etichettare i campioni come previsto dai regolamenti nazionali e/o internazionali per il trasporto di campioni e agenti eziologici.

Figura 1 Condizioni di conservazione dei campioni

Istruzioni per l'uso

Note sulla procedura

- Non utilizzare i reagenti del test **cobas® HCV**, **cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit**, **cobas® NHP Negative Control Kit** e i reagenti **cobas omni** oltre la data di scadenza.
- Non riutilizzare i consumabili. Sono esclusivamente monouso.
- Per informazioni sulla corretta manutenzione degli strumenti, consultare l'Assistenza Utente e/o la Guida Utente del **cobas® 5800 System** o dei **cobas® 6800/8800 Systems**.

Esecuzione del test cobas® HCV sul cobas® 5800 System

È possibile eseguire il test cobas® HCV con due diversi volumi: 350 µl (per il flusso di lavoro con 200 µl di campione) o 650 µl (per il flusso di lavoro con 500 µl di campione). La procedura del test è descritta in maniera dettagliata nell'Assistenza Utente e/o nella Guida Utente del cobas® 5800 System. La procedura è riassunta nella Figura 2.

- **Nota: non utilizzare il flusso di lavoro con 200 µl di campione se la carica virale prevista è ≤ 100 UI/ml. Assicurarsi di prelevare una quantità di sangue che consenta di disporre di 500 µl di siero o plasma EDTA per l'analisi (volume minimo del campione: 650 µl).**

Figura 2 Procedura del test cobas® HCV sul cobas® 5800 System

1	Eeguire la procedura di accesso al sistema
2	Caricamento dei campioni sul sistema: <ul style="list-style-type: none"> • Caricare i rack per campioni sul sistema • Il sistema si prepara automaticamente • Ordinare i test
3	Ricaricare i reagenti e i consumabili segnalati dal sistema: <ul style="list-style-type: none"> • Caricare le cassette dei reagenti specifici per il test • Caricare i minirack per i controlli • Caricare i puntali di estrazione • Caricare i puntali di eluizione • Caricare le piastre di estrazione • Caricare le piastre per rifiuti liquidi • Caricare le piastre di amplificazione • Caricare la cassetta MGP • Ricaricare il diluente per campioni • Ricaricare il reagente di lisi • Ricaricare il reagente di lavaggio
4	Avviare la seduta selezionando il pulsante Start nell'interfaccia utente; tutte le sedute successive si avvieranno automaticamente, a meno che non vengano posticipate manualmente
5	Rivedere ed esportare i risultati
6	Rimuovere e tappare le provette campione contenenti il volume minimo richiesto per eventuale uso futuro Pulire lo strumento: <ul style="list-style-type: none"> • Scaricare i minirack per i controlli vuoti • Scaricare le cassette dei reagenti specifici per il test • Svuotare il cassetto per piastre di amplificazione • Svuotare i rifiuti liquidi • Svuotare i rifiuti solidi

Esecuzione del test cobas® HCV sui cobas® 6800/8800 Systems

È possibile eseguire il test cobas® HCV con due diversi volumi: 350 µl (per il flusso di lavoro con 200 µl di campione) o 650 µl (per il flusso di lavoro con 500 µl di campione). La procedura del test è descritta dettagliatamente nella Guida Utente e/o nell'Assistenza Utente dei cobas® 6800/8800 Systems. La procedura è riassunta nella Figura 3.

- **Nota: non utilizzare il flusso di lavoro con 200 µl di campione se la carica virale prevista è ≤ 100 UI/ml. Assicurarsi di prelevare una quantità di sangue che consenta di disporre di 500 µl di siero o plasma EDTA per l'analisi (volume minimo del campione: 650 µl).**

Figura 3 Procedura del test cobas® HCV sui cobas® 6800/8800 Systems

1	Eeguire la procedura di accesso al sistema Premere Start per preparare il sistema Ordinare i test
2	Ricaricare i reagenti e i consumabili segnalati dal sistema <ul style="list-style-type: none"> • Caricare la cassetta dei reagenti specifici per il test • Caricare le cassette dei controlli • Caricare i puntali di pipettamento • Caricare le piastre di estrazione • Caricare il reagente MGP • Caricare le piastre di amplificazione • Ricaricare il diluente per campioni • Ricaricare il reagente di lisi • Ricaricare il reagente di lavaggio
3	Caricamento dei campioni sul sistema <ul style="list-style-type: none"> • Caricare i rack per campioni e i rack portapuntali otturati sullo stesso modulo di inserimento dei campioni • Confermare che i campioni sono stati accettati dal modulo di trasferimento
4	Per avviare la seduta, scegliere il pulsante Avvio manuale nell'interfaccia utente o attendere l'avvio automatico dopo 120 minuti o se il batch è al completo
5	Rivedere ed esportare i risultati
6	Rimuovere e tappare le provette campione contenenti il volume minimo richiesto per eventuale uso futuro Pulire lo strumento <ul style="list-style-type: none"> • Scaricare le cassette dei controlli vuote • Svuotare il cassetto per piastre di amplificazione • Svuotare i rifiuti liquidi • Svuotare i rifiuti solidi

Risultati

Il **cobas**® 5800 System e i **cobas**® 6800/8800 Systems rilevano automaticamente la concentrazione del RNA di HCV per i campioni e i controlli. La concentrazione di RNA di HCV si esprime in unità internazionali per millilitro (UI/ml).

Controllo di qualità e validità dei risultati sul **cobas**® 5800 System

- In ogni batch vengono eseguiti un controllo negativo [(-) C] e due controlli positivi: un controllo positivo basso [HCV L(+)C] e un controllo positivo alto [HCV H(+)C]. Ciò avviene almeno ogni 72 ore o per ogni nuovo lotto del kit. È possibile aumentare la frequenza con cui sono programmati i controlli positivi e/o negativi in base alle procedure del laboratorio e/o ai regolamenti locali.
- Nel software **cobas**® 5800 System e/o nel report, verificare se sono presenti eventuali avvisi e i risultati corrispondenti, in modo da confermare la validità del batch.
- Il batch è valido se non viene generato nessun flag per i tre controlli, che includono un controllo negativo e due controlli positivi: HCV L(+)C, HCV H(+)C. Il risultato del controllo negativo è visualizzato come (-) C e i controlli positivi alto e basso sono visualizzati come HxV L(+)C e HxV H(+)C.

Il **cobas**® 5800 software considera automaticamente non validi i risultati in caso di fallimento del controllo negativo e dei controlli positivi.

NOTA: il **cobas**® 5800 System è preimpostato in modo che venga eseguita una serie di controlli (positivi e negativi) con ogni seduta; tuttavia è possibile configurare una frequenza inferiore, fino a 72 ore, in base alle procedure del laboratorio e/o ai regolamenti locali. Per maggiori informazioni, rivolgersi ad un tecnico Roche e/o all'assistenza clienti Roche.

Risultati dei controlli sul **cobas**® 5800 System

I risultati dei controlli sono visualizzati nell'app “Controls” del software **cobas**® 5800.

- I controlli sono contrassegnati come “validi” nella colonna del risultato del controllo se tutti i target del controllo sono validi. I controlli sono contrassegnati come “non validi” nella colonna del risultato del controllo se tutti i target del controllo sono non validi.
- Ai controlli “non validi” viene associato un avviso nella colonna degli avvisi. Nella vista dettagliata viene spiegato il motivo per cui il controllo è contrassegnato come non valido e vengono mostrati gli eventuali avvisi.
- Se uno dei controlli positivi non è valido, ripetere il test di tutti i controlli positivi e di tutti i campioni interessati. Se il controllo negativo non è valido, ripetere il test su tutti i controlli e su tutti i campioni interessati.

Controllo di qualità e validità dei risultati sui **cobas**® 6800/8800 Systems

- In ogni batch eseguito sui **cobas**® 6800/8800 Systems vengono inclusi un controllo negativo [(-) C] e due controlli positivi, ovvero un controllo positivo basso [HCV L(+)C] e un controllo positivo alto [HCV H(+)C].
- Nel software **cobas**® 6800/8800 Systems e/o nei report, verificare se sono presenti eventuali avvisi e i risultati corrispondenti, in modo da confermare la validità del batch.
- Il batch è valido se non viene generato nessun flag per i tre controlli, che includono un controllo negativo e due controlli positivi: HCV L(+)C, HCV H(+)C. Il risultato del controllo negativo è visualizzato come (-) C e i controlli positivi alto e basso sono visualizzati come HxV L(+)C e HxV H(+)C.

Il software **cobas**® 6800/8800 considera automaticamente non validi i risultati in caso di fallimento dei controlli negativo e positivo.

Avvisi dei controlli sui **cobas**® 6800/8800 Systems

Tabella 11 Flag per i controlli positivi e negativi

Controllo negativo	Flag	Risultato	Interpretazione
(-) C	Q02 (Batch di controllo non riuscito)	Non valido	Un risultato non valido, oppure il risultato del titolo calcolato per il controllo negativo non è negativo.
Controllo positivo	Flag	Risultato	Interpretazione
HxV L(+) C	Q02 (Batch di controllo non riuscito)	Non valido	Un risultato non valido, oppure il risultato del titolo calcolato per il controllo positivo basso non rientra nell'intervallo assegnato.
HxV H(+) C	Q02 (Batch di controllo non riuscito)	Non valido	Un risultato non valido, oppure il risultato del titolo calcolato per il controllo positivo alto non rientra nell'intervallo assegnato.

Se il batch non è valido, è necessario ripetere il test sull'intero batch, compresi campioni e controlli.

Nel software **cobas**® 6800/8800 Systems, la sigla HxV L(+)
C significa controllo positivo basso **cobas**® HBV/HCV/HIV-1 e la sigla HxV H(+)
C significa controllo positivo alto **cobas**® HBV/HCV/HIV-1.

Interpretazione dei risultati

Nel caso di un batch di controllo valido, verificare nel software **cobas**® 5800 System e **cobas**® 6800/8800 Systems e/o nei report se sono presenti eventuali avvisi per ogni singolo campione. I risultati dovranno essere interpretati applicando i seguenti criteri:

- Un batch valido può includere risultati dei campioni validi e non validi.

Tabella 12 Risultati per i singoli target e relativa interpretazione

Risultati	Interpretazione
Target Not Detected	RNA di HCV non rilevato. Segnalare i risultati nel report come "HCV non rilevato".
< Titer Min	Il titolo calcolato è al di sotto del limite inferiore di quantificazione (LLOQ) del saggio. Segnalare i risultati nel report come "HCV rilevato, minore di (Titer Min)". Titer min = 15 UI/ml (se il volume di analisi è di 500 µl) Titer min = 40 UI/ml (se il volume di analisi è di 200 µl)
Titer	Il titolo calcolato rientra nell'intervallo lineare del saggio: maggiore o uguale al valore "Titer Min" e minore o uguale al valore "Titer Max". Segnalare i risultati come "(Titolo) di HCV rilevato".
> Titer Max ^a	Il titolo calcolato è al di sopra del limite superiore di quantificazione (ULOQ) del saggio. Segnalare i risultati nel report come "HCV rilevato, maggiore di (Titer Max)". Titer max = 1,00E+08 UI/ml (500 µl e 200 µl)

^a Se il risultato del campione è "> Titer Max", si riferisce ai campioni HCV-positivi con titoli al di sopra del limite di quantificazione superiore (ULOQ). Se si desidera ottenere un risultato quantitativo, diluire il campione originale in siero o plasma EDTA HCV-negativo (a seconda del tipo di campione di partenza) quindi ripetere il test. Moltiplicare il risultato ottenuto per il fattore di diluizione.

Interpretazione dei risultati sul cobas® 5800 System

I risultati dei campioni sono visualizzati nell'app "Risultati" del software **cobas**® 5800.

Nel caso di un batch di controllo valido, verificare nel software **cobas**® 5800 System e/o nel report se sono presenti eventuali avvisi per ogni singolo campione. I risultati dovranno essere interpretati applicando i seguenti criteri:

- I campioni associati a un batch di controllo valido sono mostrati come "Validi" nella colonna "Risultato di controllo" se tutti i risultati dei target del controllo sono stati indicati come validi nel report. I campioni associati a un batch di controllo non valido sono mostrati come "Non validi" nella colonna "Risultato di controllo" se tutti i risultati dei target del controllo sono stati indicati come non validi nel report.
- Se i controlli associati di un risultato campione sono non validi, verrà aggiunto un flag specifico al risultato campione nel modo seguente:
 - Q05D: validazione dei risultati non riuscita a causa di un controllo positivo non valido
 - Q06D: validazione dei risultati non riuscita a causa di un controllo negativo non valido
- I valori nella colonna "Risultati" relativi ai singoli risultati target dei campioni devono essere interpretati nel modo indicato in Tabella 12.
- Se uno o più target dei campioni sono contrassegnati con "Non valido", il software **cobas**® 5800 mostra un flag nella colonna "Flag". Nella vista dettagliata viene spiegato il motivo per cui i target dei campioni sono contrassegnati come non validi e vengono mostrati gli eventuali avvisi.

Interpretazione dei risultati sui cobas® 6800/8800 Systems

Se un batch è valido, verificare nel software dei cobas® 6800/8800 Systems e/o nel report se sono presenti flag per ogni singolo campione. I risultati dovranno essere interpretati applicando i seguenti criteri:

- I campioni sono contrassegnati con “Yes” nella colonna “Valido” se tutti i target richiesti hanno generato risultati validi. I campioni contrassegnati con “No” nella colonna “Valido” potrebbero necessitare di ulteriore interpretazione e altri interventi.
- I valori per ogni risultato target del campione dovrebbero essere interpretati secondo le informazioni riportate nella precedente Tabella 12.

Limiti della procedura

- Il test cobas® HCV è stato valutato soltanto in associazione con i prodotti cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit, cobas® NHP Negative Control Kit, cobas omni MGP Reagent, cobas omni Lysis Reagent, cobas omni Specimen Diluent e cobas omni Wash Reagent per l'uso sui cobas® 5800/6800/8800 Systems.
- L'affidabilità dei risultati è influenzata dal metodo di raccolta, conservazione e manipolazione dei campioni.
- Questo test è stato approvato esclusivamente per l'uso con campioni di siero e plasma EDTA. L'uso del test con altri tipi di campioni può generare risultati non accurati.
- La quantificazione dell'RNA di HCV dipende dal numero di particelle virali presenti nei campioni e può essere influenzata dal metodo di prelievo del campione, da fattori legati al paziente (ad esempio, età e presenza di sintomi) e/o dallo stadio dell'infezione.
- Anche se rare, le mutazioni nelle regioni altamente conservate di un genoma virale coperte dal test cobas® HCV possono alterare i legami dei primer e/o delle sonde e causare una quantificazione per difetto del virus o impedire l'identificazione del virus.
- A causa delle differenze intrinseche tra le tecnologie, si consiglia agli utenti, prima di passare da una tecnologia a un'altra, di svolgere uno studio sulla correlazione tra i metodi nel proprio laboratorio, così da qualificare tali differenze. Si consiglia agli utenti di elaborare norme/procedure specifiche.
- Il test cobas® HCV non è destinato all'uso come test di screening per la presenza di HCV nel sangue e negli emoderivati.

Valutazione delle prestazioni non cliniche

Caratteristiche delle prestazioni chiave sui cobas® 6800/8800 Systems

Limite di sensibilità (LoD)

Standard Internazionale OMS

Il limite di sensibilità del test cobas® HCV è stato determinato analizzando le diluizioni seriali dello Standard Internazionale dell'OMS per l'RNA del virus dell'epatite C per i test NAAT (IV Standard Internazionale dell'OMS), genotipo 1a, ottenuto dal NIBSC (*National Institute for Biological Standards and Control*), nel plasma EDTA e nel siero umano HCV-negativo utilizzando volumi di analisi di 500 µl e 200 µl. Il volume di campione minimo richiesto era, rispettivamente, di 650 µl e 350 µl, da analizzare sui cobas® 6800/8800 Systems. I pannelli, costituiti da 6 livelli di concentrazione più un campione negativo per il volume di analisi del campione di 500 µl e da 7 livelli di concentrazione

per il volume di analisi del campione di 200 µl, sono stati testati utilizzando 3 lotti dei reagenti del test **cobas**® HCV con più sedute, giorni, operatori e strumenti.

I risultati ottenuti con entrambi i volumi di analisi del campione, sia plasma EDTA che siero, sono riportati rispettivamente nella Tabella 13 e nella Tabella 16. Lo studio dimostra che il test **cobas**® HCV ha rilevato l'RNA di HCV ad una concentrazione di 8,46 UI/ml, con un IC al 95% compreso tra 7,50-9,79 UI/ml per il volume di analisi del campione pari a 500 µl di plasma EDTA; e ad una concentrazione di 9,61 UI/ml, con un IC al 95% compreso tra 8,70-10,95 UI/ml, per il volume di analisi del campione pari a 500 µl di siero. Lo studio dimostra che il test **cobas**® HCV ha rilevato l'RNA di HCV ad una concentrazione di 24,93 UI/ml, con un IC al 95% compreso tra 22,51-28,35 UI/ml, per il volume di analisi del campione pari a 200 µl di plasma EDTA; e ad una concentrazione di 33,25 UI/ml, con un IC al 95% compreso tra 29,94-37,94 UI/ml, per il volume di analisi del campione pari a 200 µl di siero. La differenza tra i volumi di analisi del campione (500 µl e 200 µl) di plasma EDTA e di siero non è risultata significativa dal punto di vista statistico.

Tabella 13 Limite di sensibilità per il plasma EDTA (500 µl)

Concentrazione iniziale del titolo (UI/ml di RNA di HCV)	N. di repliche valide	N. di positivi	Tasso di successo %
30	189	189	100,00
20	188	186	98,94
15	189	187	98,94
10	189	183	96,83
8	188	182	96,81
5	188	155	82,45
0	189	1*	0,53
LoD tramite analisi PROBIT con tasso di successo al 95%	8,46 UI/ml Intervallo di confidenza al 95%: 7,50-9,79 UI/ml		

* Campioni confermati negativi da metodi analitici alternativi.

Tabella 14 Limite di sensibilità per il siero (500 µl)

Concentrazione iniziale del titolo (UI/ml di RNA di HCV)	N. di repliche valide	N. di positivi	Tasso di successo %
30	188	187	99,47
20	189	189	100,00
15	189	187	98,94
10	189	184	97,35
8	189	171	90,48
5	189	141	74,60
0	189	0	0,00
LoD tramite analisi PROBIT con tasso di successo al 95%	9,61 UI/ml Intervallo di confidenza al 95%: 8,70-10,95 UI/ml		

Tabella 15 Limite di sensibilità per il plasma EDTA (200 µl)

Concentrazione iniziale del titolo (UI/ml di RNA di HCV)	N. di repliche valide	N. di positivi	Tasso di successo %
80	189	189	100,00
60	189	189	100,00
50	188	187	99,47
40	189	185	97,88
25	189	179	94,71
20	189	177	93,65
12	188	136	72,34
0	189	1*	0,53
LoD tramite analisi PROBIT con tasso di successo al 95%	24,93 UI/ml Intervallo di confidenza al 95%: 22,51-28,35 UI/ml		

* Campioni confermati negativi da metodi analitici alternativi.

Tabella 16 Limite di sensibilità per il siero (200 µl)

Concentrazione iniziale del titolo (UI/ml di RNA di HCV)	N. di repliche valide	N. di positivi	Tasso di successo %
80	189	189	100,00
60	189	188	99,47
50	189	186	98,41
40	189	184	97,35
25	189	167	88,36
20	189	156	82,54
12	189	125	66,14
0	189	0	0,00
LoD tramite analisi PROBIT con tasso di successo al 95%	33,25 UI/ml Intervallo di confidenza al 95%: 29,94-37,94 UI/ml		

Intervallo lineare

Lo studio relativo alla linearità del test **cobas**® HCV è stato eseguito utilizzando una serie di diluizioni costituita da un pannello di 16 campioni, a copertura dell'intero intervallo lineare previsto per il genotipo predominante (GT 1). I campioni del pannello con titolo alto sono stati preparati a partire da uno stock di Armored RNA (arRNA) positivo con titolo alto, mentre i campioni del pannello con titolo basso sono stati preparati a partire da un campione clinico (*Clinical Sample*, CS). Il pannello dello studio di linearità è stato concepito prevedendo una sovrapposizione del titolo di $2 \log_{10}$ tra i due materiali di origine. L'intervallo lineare atteso per il test **cobas**® HCV era compreso tra un limite minimo LLoQ (15 UI/ml per 500 μ l di campione e 40 UI/ml per 200 μ l di campione) e un limite massimo ULoQ (1,00E+08 UI/ml per entrambi i campioni). Il pannello dello studio di linearità è stato concepito tenendo conto di una concentrazione inferiore al limite minimo LLoQ (ad esempio, 7,5 UI/ml) e di una concentrazione superiore al limite massimo ULoQ (ad esempio, 2,0E+08 UI/ml) e includendo alcune concentrazioni significative per decisioni mediche. Inoltre il pannello dello studio di linearità supporta parzialmente incrementi di $1,0 \log_{10}$ lungo tutto l'intervallo lineare. Per ogni campione del pannello sono state indicate la concentrazione nominale in UI/ml e l'origine dell'RNA di HCV.

Con un volume di analisi del campione pari a 500 μ l, il test **cobas**® HCV è lineare per il plasma EDTA e per il siero nell'intervallo compreso 15 UI/ml e 1,00E+08 UI/ml, con una deviazione assoluta dalla regressione non-lineare di migliore adattamento minore di $\pm 0,24 \log_{10}$. Lungo l'intervallo lineare, l'accuratezza del test è compresa entro $\pm 0,24 \log_{10}$.

Con un volume di analisi del campione pari a 200 μ l, il test **cobas**® HCV è lineare per il plasma EDTA e per il siero nell'intervallo compreso tra 40 UI/ml e 1,00E+08 UI/ml, con una deviazione assoluta dalla regressione non-lineare di migliore adattamento minore di $\pm 0,24 \log_{10}$. Sull'intero intervallo lineare, l'accuratezza del test è stata di $\pm 0,24 \log_{10}$ nel plasma e di $\pm 0,27 \log_{10}$ nel siero.

Per una rappresentazione dei risultati, vedere dalla Figura 4 alla Figura 7.

Figura 4 Linearità per il plasma EDTA (500 μ l)

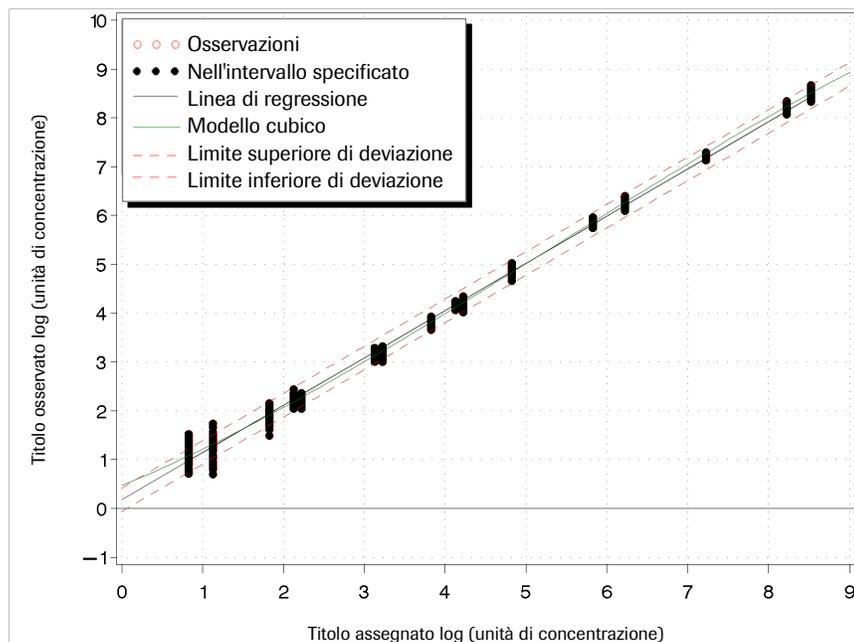


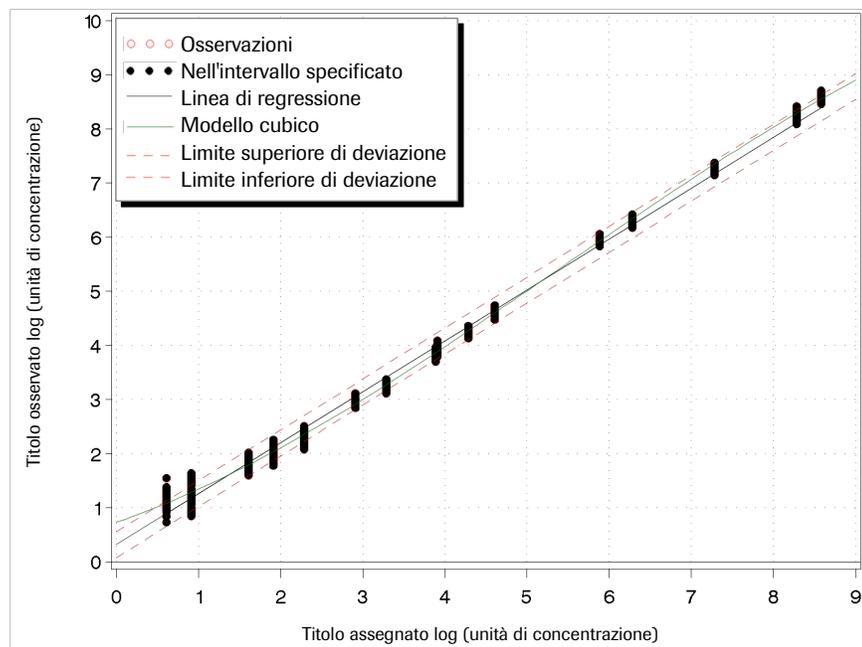
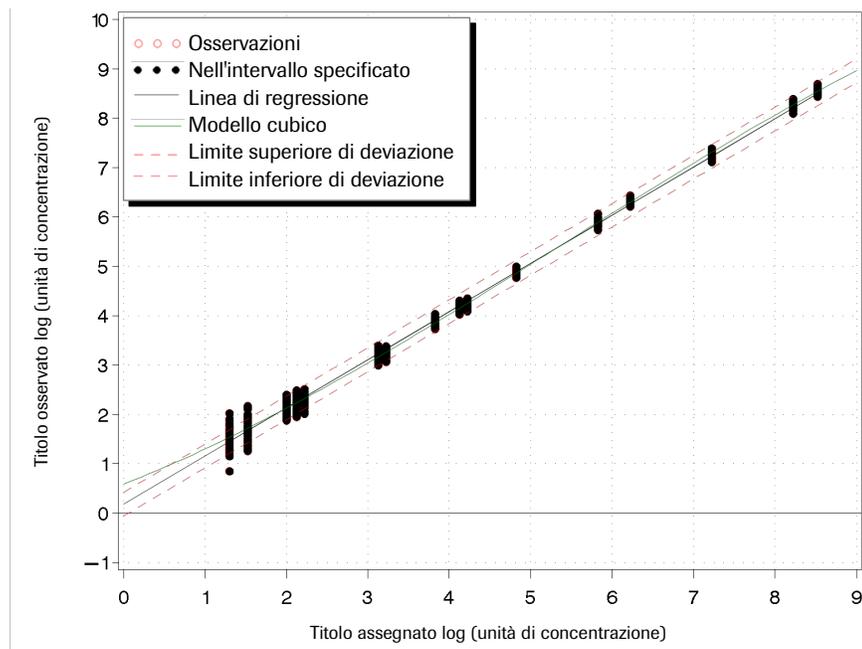
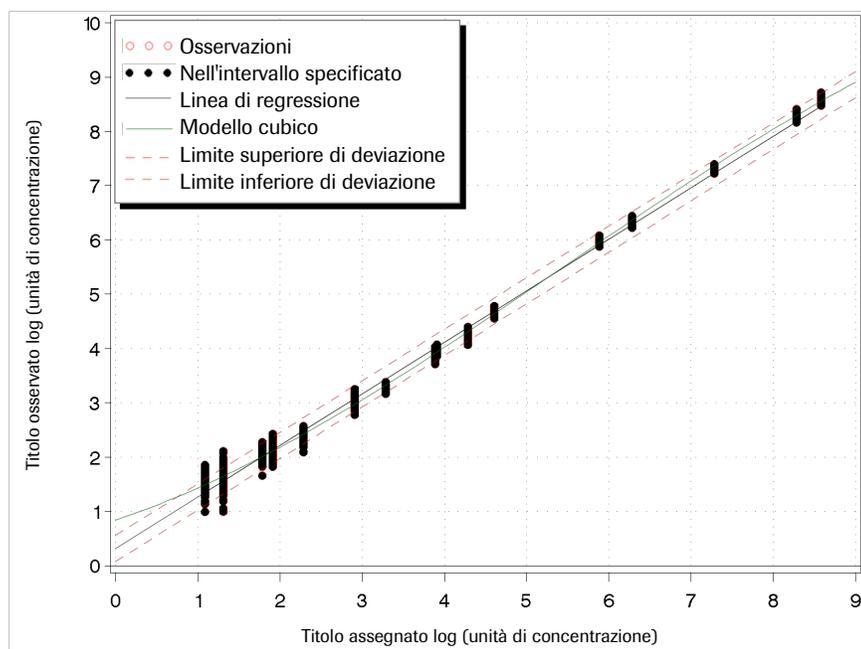
Figura 5 Linearità per il siero (500 µl)**Figura 6** Linearità per il plasma EDTA (200 µl)

Figura 7 Linearità per il siero (200 µl)

Precisione intra-laboratorio

La precisione del test **cobas**® HCV è stata determinata analizzando diluizioni seriali di campioni clinici (CS) di HCV (genotipo 1) o di Armored RNA di HCV, in plasma EDTA o siero HCV-negativo. I test sono stati eseguiti su 13 livelli di diluizione per il plasma e su 12 livelli di diluizione per il siero, con due ripetizioni per ogni livello, eseguendo due sedute nell'arco di 12 giorni, per un totale di 48 ripetizioni per livello di concentrazione. Ogni campione è stato sottoposto all'intera procedura prevista per il test **cobas**® HCV, che è completamente automatizzata sui **cobas**® 6800/8800 Systems. La precisione riferita in questa sede è dunque rappresentativa di tutti gli aspetti della procedura del test. Lo studio è stato eseguito con tre lotti di reagenti del test **cobas**® HCV. I risultati sono riportati dalla Tabella 17 alla Tabella 20.

Il test **cobas**® HCV ha dimostrato un'elevata precisione con i tre lotti di reagenti utilizzati su un intervallo di concentrazione tra $1,00E+01$ UI/ml e $1,0E+07$ UI/ml nel caso del volume di analisi di 500 µl e tra $2,50E+01$ UI/ml e $1,0E+07$ UI/ml nel caso del volume di analisi di 200 µl.

Tabella 17 Precisione intra-laboratorio del test **cobas®** HCV (campioni di plasma EDTA - volume di analisi 500 µl)*

Concentrazione nominale (UI/ml)	Concentrazione assegnata (UI/ml)	Materiale di origine	Plasma EDTA			
			Lotto 1	Lotto 2	Lotto 3	Tutti i lotti
			DS	DS	DS	DS in pool
1,00E+07	1,67E+07	arRNA	0,04	0,05	0,03	0,04
1,00E+06	1,67E+06	arRNA	0,05	0,05	0,06	0,05
4,00E+05	6,69E+05	arRNA	0,03	0,04	0,05	0,04
5,00E+04	6,69E+04	CS	0,08	0,06	0,06	0,06
1,00E+04	1,67E+04	arRNA	0,05	0,05	0,04	0,05
1,00E+04	1,34E+04	CS	0,03	0,06	0,05	0,05
4,00E+03	6,69E+03	arRNA	0,05	0,06	0,06	0,06
1,00E+03	1,34E+03	CS	0,05	0,06	0,05	0,05
1,00E+03	1,67E+03	arRNA	0,05	0,07	0,05	0,06
1,00E+02	1,34E+02	CS	0,06	0,09	0,05	0,07
1,00E+02	1,67E+02	arRNA	0,10	0,06	0,06	0,08
5,00E+01	6,69E+01	CS	0,09	0,17	0,10	0,13
1,00E+01	1,34E+01	CS	0,26	0,21	0,13	0,21

* I dati dei titoli sono considerati come distribuiti secondo una curva log-normale e sono analizzati secondo la trasformazione log₁₀. Le colonne DS (Deviazione Standard) indicano il totale del titolo dopo la trasformazione log per ognuno dei tre lotti di reagenti.

Tabella 18 Precisione intra-laboratorio del test **cobas®** HCV (siero - volume di analisi 500 µl)*

Concentrazione nominale (UI/ml)	Concentrazione assegnata (UI/ml)	Materiale di origine	Siero			
			Lotto 1	Lotto 2	Lotto 3	Tutti i lotti
			DS	DS	DS	DS in pool
1,00E+07	1,92E+07	arRNA	0,03	0,07	0,04	0,05
1,00E+06	1,92E+06	arRNA	0,05	0,06	0,04	0,05
4,00E+05	7,69E+05	arRNA	0,03	0,07	0,03	0,05
5,00E+04	4,05E+04	CS	0,07	0,06	0,04	0,06
1,00E+04	1,92E+04	arRNA	0,06	0,06	0,04	0,05
1,00E+04	8,11E+03	CS	0,05	0,06	0,04	0,05
4,00E+03	7,69E+03	arRNA	0,04	0,08	0,04	0,06
1,00E+03	8,11E+02	CS	0,05	0,06	0,06	0,05
1,00E+03	1,92E+03	arRNA	0,06	0,05	0,05	0,05
1,00E+02	8,11E+01	CS	0,10	0,18	0,10	0,13
1,00E+02	1,92E+02	arRNA	0,07	0,08	0,09	0,08
5,00E+01	4,05E+01	CS	0,09	0,14	0,18	0,14

* I dati dei titoli sono considerati come distribuiti secondo una curva log-normale e sono analizzati secondo la trasformazione log₁₀. Le colonne DS (Deviazione Standard) indicano il totale del titolo dopo la trasformazione log per ognuno dei tre lotti di reagenti.

Tabella 19 Precisione intra-laboratorio del test **cobas®** HCV (campioni di plasma EDTA - volume di analisi 200 µl)*

Concentrazione nominale (UI/ml)	Concentrazione assegnata (UI/ml)	Materiale di origine	Plasma EDTA			
			Lotto 1	Lotto 2	Lotto 3	Tutti i lotti
			DS	DS	DS	DS in pool
1,00E+07	1,67E+07	arRNA	0,04	0,06	0,05	0,05
1,00E+06	1,67E+06	arRNA	0,04	0,03	0,05	0,04
4,00E+05	6,69E+05	arRNA	0,04	0,06	0,03	0,04
5,00E+04	6,69E+04	CS	0,05	0,06	0,05	0,06
1,00E+04	1,67E+04	arRNA	0,05	0,05	0,05	0,05
1,00E+04	1,34E+04	CS	0,07	0,06	0,05	0,06
4,00E+03	6,69E+03	arRNA	0,05	0,06	0,05	0,05
1,00E+03	1,34E+03	CS	0,08	0,08	0,06	0,07
1,00E+03	1,67E+03	arRNA	0,04	0,07	0,05	0,05
1,00E+02	1,34E+02	CS	0,11	0,15	0,13	0,13
1,00E+02	1,67E+02	arRNA	0,10	0,10	0,13	0,11
7,50E+01	1,00E+02	CS	0,15	0,12	0,11	0,13
2,50E+01	3,34E+01	CS	0,19	0,20	0,22	0,21

* I dati dei titoli sono considerati come distribuiti secondo una curva log-normale e sono analizzati secondo la trasformazione log₁₀. Le colonne DS (Deviazione Standard) indicano il totale del titolo dopo la trasformazione log per ognuno dei tre lotti di reagenti.

Tabella 20 Precisione intra-laboratorio del test **cobas®** HCV (siero - volume di analisi 200 µl)*

Concentrazione nominale (UI/ml)	Concentrazione assegnata (UI/ml)	Materiale di origine	Siero			
			Lotto 1	Lotto 2	Lotto 3	Tutti i lotti
			DS	DS	DS	DS in pool
1,00E+07	1,92E+07	arRNA	0,02	0,06	0,03	0,04
1,00E+06	1,92E+06	arRNA	0,03	0,06	0,04	0,04
4,00E+05	7,69E+05	arRNA	0,04	0,09	0,04	0,06
5,00E+04	4,05E+04	CS	0,05	0,06	0,06	0,06
1,00E+04	1,92E+04	arRNA	0,05	0,07	0,04	0,06
1,00E+04	8,11E+03	CS	0,04	0,05	0,05	0,05
4,00E+03	7,69E+03	arRNA	0,04	0,07	0,04	0,05
1,00E+03	8,11E+02	CS	0,10	0,09	0,08	0,09
1,00E+03	1,92E+03	arRNA	0,05	0,07	0,04	0,05
1,00E+02	8,11E+01	CS	0,17	0,30	0,17	0,22
1,00E+02	1,92E+02	arRNA	0,13	0,13	0,09	0,12
7,50E+01	6,08E+01	CS	0,11	0,16	0,12	0,13

* I dati dei titoli sono considerati come distribuiti secondo una curva log-normale e sono analizzati secondo la trasformazione log₁₀. Le colonne DS (Deviazione Standard) indicano il totale del titolo dopo la trasformazione log per ognuno dei tre lotti di reagenti.

Verifica del genotipo

Le prestazioni del test **cobas**® HCV sono state verificate con riferimento ai genotipi di HCV:

- Determinazione del limite di sensibilità per i genotipi dall'1b al 6, con un campione di 500 µl
- Verifica del limite di sensibilità per i genotipi dall'1b al 6, con un campione di 200 µl
- Verifica della linearità per i genotipi dal 2 al 6.

Limite di sensibilità per i genotipi dall'1b al 6

Il limite di sensibilità del test **cobas**® HCV per i genotipi compresi tra l'1b e il 6 è stato determinato analizzando diluizioni seriali di ogni genotipo in plasma EDTA e in siero umano HCV-negativo, utilizzando volumi di analisi di 500 µl.

I pannelli, costituiti da sei livelli di concentrazione più un campione negativo, sono stati analizzati con tre lotti di reagenti del test **cobas**® HCV e utilizzando più sedute, più giorni, più operatori e più strumenti.

I risultati relativi a siero e plasma EDTA per il volume di analisi di 500 µl sono riportati rispettivamente nella Tabella 21 e nella Tabella 22. Lo studio dimostra che il test **cobas**® HCV ha rilevato tutti i genotipi di HCV analizzati con un limite di sensibilità (*Limit of Detection*, LoD) simile a quello per il genotipo 1a dell'HCV.

Tabella 21 Limite di sensibilità per i genotipi di RNA di HCV in plasma EDTA (500 µl)

Genotipo	LoD 95% mediante analisi Probit	Intervallo di confidenza al 95%
GT 1b	11,32 UI/ml	9,72-14,52 UI/ml
GT 2	9,10 UI/ml	7,83-11,80 UI/ml
GT 3	8,68 UI/ml	7,30-11,51 UI/ml
GT 4	12,78 UI/ml	10,69-17,20 UI/ml
GT 5	11,63 UI/ml	9,66-15,98 UI/ml
GT 6	12,58 UI/ml	9,78-20,10 UI/ml

Tabella 22 Limite di sensibilità per i genotipi di RNA di HCV in siero (500 µl)

Genotipo	LoD 95% mediante analisi Probit	Intervallo di confidenza al 95%
GT 1b	15,24 UI/ml	12,40-21,58 UI/ml
GT 2	12,51 UI/ml	10,25-17,63 UI/ml
GT 3	7,21 UI/ml	6,10-9,50 UI/ml
GT 4	11,62 UI/ml	9,92-15,02 UI/ml
GT 5	13,06 UI/ml	10,64-18,68 UI/ml
GT 6	11,15 UI/ml	9,54-14,40 UI/ml

Verifica del limite di sensibilità per i genotipi 1b-6

I campioni clinici dell'RNA di HCV per sei diversi genotipi (1b, 2, 3, 4, 5, 6) sono stati diluiti a tre livelli di concentrazione diversi in plasma EDTA e in siero. Il calcolo del tasso di successo è stato effettuato con 63 ripetizioni per ogni livello. I test sono stati eseguiti con tre lotti di reagenti cobas® HCV. I risultati per il plasma EDTA e per il siero con un volume di analisi di 200 µl sono riportati rispettivamente nella Tabella 23 e nella Tabella 24. Questi risultati confermano che il test cobas® HCV ha rilevato l'RNA di HCV per i sei diversi genotipi a concentrazioni di 33 UI/ml, con un tasso di successo del ≥ 90,5%, con un intervallo di confidenza al 95% unilaterale ≥ 95,8%.

Tabella 23 Verifica del limite di sensibilità per i genotipi dell'RNA di HCV in plasma EDTA (200 µl)

Genotipo	17,5 UI/ml			33 UI/ml			50 UI/ml		
	N. di repliche valide	N. di positivi	Tasso di successo % (IC 95%*)	N. di repliche valide	N. di positivi	Tasso di successo % (IC 95%*)	N. di repliche valide	N. di positivi	Tasso di successo % (IC 95%*)
1b	63	50	79,4	63	61	96,8	63	63	100,0
2	63	51	81,0	63	62	98,4	63	62	98,4
3	63	56	89,0	63	58	92,1	63	63	100,0
4	63	54	85,7	63	57	90,5	63	63	100,0
5	63	57	90,5	63	61	96,8	63	63	100,0
6	63	47	74,6	63	57	90,5	63	62	98,4

* Limite superiore dell'intervallo di confidenza al 95% unilaterale

Tabella 24 Verifica del limite di sensibilità per i genotipi dell'RNA di HCV in siero (200 µl)

Genotipo	17,5 UI/ml			33 UI/ml			50 UI/ml		
	N. di repliche valide	N. di positivi	Tasso di successo % (IC 95%*)	N. di repliche valide	N. di positivi	Tasso di successo % (IC 95%*)	N. di repliche valide	N. di positivi	Tasso di successo % (IC 95%*)
1b	63	52	82,5	63	61	96,8	63	63	100,0
2	63	46	73,0	63	62	98,4	63	59	93,7
3	63	58	92,1	63	63	100,0	63	63	100,0
4	63	49	77,8	63	59	93,7	63	63	100,0
5	63	46	73,0	63	59	93,7	63	62	98,4
6	63	44	69,8	63	61	96,8	63	61	96,8

* Limite superiore dell'intervallo di confidenza al 95% unilaterale

Linearità per i genotipi dal 2 al 6

La serie di diluizioni utilizzata per la verifica dello studio di linearità sui genotipi del test **cobas**® HCV era costituita da un pannello di nove campioni rappresentativi dell'intervallo lineare previsto. I campioni del pannello con titolo alto sono stati preparati a partire da uno stock di arRNA positivo con titolo alto, mentre i campioni del pannello con titolo basso sono stati preparati a partire da un campione clinico (*Clinical Sample*, CS) positivo con titolo alto. Il pannello dello studio di linearità è stato concepito prevedendo una sovrapposizione del titolo di $2 \log_{10}$ tra i due materiali di origine. L'intervallo lineare del test **cobas**® HCV era compreso tra il limite minimo LLoQ (15 UI/ml per un campione di 500 µl, 40 UI/ml per un campione di 200 µl) e il limite massimo ULoQ (1,00E+08 UI/ml per entrambi i campioni) e includeva almeno un punto di decisione medica. I test sono stati eseguiti con tre lotti di reagenti **cobas**® HCV e 15 ripetizioni per ogni livello in plasma EDTA.

La linearità entro l'intervallo lineare del test **cobas**® HCV è stata verificata per tutti i cinque genotipi (2, 3, 4, 5 e 6). La deviazione massima tra la regressione lineare e la regressione nonlineare di migliore adattamento è risultata minore o uguale a $0,24 \log_{10}$.

Specificità

La specificità del test **cobas**® HCV è stata determinata analizzando campioni di plasma EDTA e di siero HCV-negativi ottenuti da singoli donatori. Sono stati analizzati 300 campioni di plasma EDTA e 300 campioni individuali di siero (totale risultati: 600) con due lotti di reagenti **cobas**® HCV. Tutti i campioni analizzati sono risultati negativi per l'RNA di HCV. Nel pannello di analisi, la specificità del test **cobas**® HCV è stata del 100% (limite di confidenza al 95%: $\geq 99,5\%$).

Specificità analitica

La specificità analitica del test **cobas**® HCV è stata valutata diluendo un pannello di microrganismi in plasma EDTA, sia positivo per l'RNA di HCV, sia negativo per l'RNA di HCV. I microrganismi sono stati aggiunti al plasma EDTA umano normale, negativo ai virus, e quindi analizzati con e senza l'RNA di HCV. Il test **cobas**® HCV ha prodotto risultati negativi per tutti i campioni di microrganismi in cui era assente il target HCV, mentre ha prodotto risultati positivi per tutti i campioni di microrganismi in cui era presente il target HCV. Inoltre, per ognuno dei campioni HCV-positivi contenenti organismi che possono causare potenziali reazioni crociate, la media del titolo \log_{10} si è attestata entro $\pm 0,3 \log_{10}$ rispetto alla media del titolo \log_{10} del rispettivo controllo spike positivo.

Tabella 25 Microrganismi analizzati ai fini della reattività crociata

Virus		Batteri	Lieviti
Adenovirus tipo 5	Virus del Nilo Occidentale	<i>Propionibacterium acnes</i>	<i>Candida albicans</i>
Citomegalovirus	Virus dell'encefalite di St. Louis	<i>Staphylococcus aureus</i>	
Virus di Epstein Barr	Virus dell'encefalite della Murray Valley		
Virus dell'epatite A	Virus della Dengue tipi 1, 2, 3 e 4		
Virus dell'epatite B	Virus FSME (ceppo HYPR)		
Virus dell'epatite D	Virus della febbre gialla		
Virus dell'immunodeficienza umana 1	Virus dell'herpes umano tipo 6		
Virus linfotropico delle cellule T umane tipo 1 e 2	Virus dell'herpes simplex tipo 1 e 2		
Papillomavirus umano	Virus dell'influenza A		
Virus Varicella-Zoster	Virus Zika		

Specificità analitica e sostanze interferenti

Sono stati analizzati campioni con livelli elevati di trigliceridi (34,5 g/l), bilirubina coniugata (0,25 g/l), bilirubina non coniugata (0,25 g/l), albumina (58,7 g/l), emoglobina (2,9 g/l) e DNA umano (2 mg/l), sia con RNA di HCV che senza. Le sostanze interferenti endogene che sono state analizzate non hanno alterato le prestazioni del test **cobas**® HCV.

È stata inoltre analizzata la presenza di patologie autoimmuni, quali il lupus eritematoso sistemico (LES), il fattore reumatoide (FR) e gli anticorpi antinucleo (ANA).

Per quanto riguarda la sensibilità, i campioni individuali di due donatori LES, un donatore FR e quattro donatori ANA hanno prodotto un'interferenza con il test **cobas**® HCV. Dopo un'indagine approfondita sulle cause, è stato verificato che l'interferenza prodotta dai campioni dei donatori LES e FR era risolta eseguendo il test ad una concentrazione di 75 UI/ml di RNA di HCV.

I quattro campioni di donatori ANA che avevano prodotto un'interferenza con il test **cobas**® HCV ad una concentrazione di 50 UI/ml di RNA di HCV, hanno invece prodotto un'interferenza anche ad una concentrazione di 75 UI/ml di RNA di HCV. Per valutare se l'interferenza osservata era specifica della patologia ANA o specifica del donatore, sono stati analizzati altri 15 campioni di donatori ANA con entrambe le concentrazioni di RNA di HCV: 50 UI/ml e 75 UI/ml. Per quanto riguarda la sensibilità/quantificazione, nessuno degli altri campioni dei donatori ha prodotto interferenze con il test **cobas**® HCV ai due livelli di concentrazione analizzati.

Inoltre sono stati analizzati i composti farmacologici elencati nella Tabella 26, ad una concentrazione pari a tre volte il valore C_{max} . Nessuno dei farmaci analizzati ha interferito con la specificità e la quantificazione dell'RNA di HCV da parte del test **cobas**® HCV.

Nessuna delle potenziali sostanze interferenti ha alterato in alcun modo le prestazioni del test. Il test **cobas**® HCV ha prodotto risultati negativi per tutti i campioni in cui era assente il target HCV, mentre ha prodotto risultati positivi per tutti i campioni in cui era presente il target HCV. Inoltre, per ognuno dei campioni HCV-positivi contenenti potenziali sostanze interferenti, la media del titolo \log_{10} si è attestata entro $\pm 0,3 \log_{10}$ della media del titolo \log_{10} del rispettivo controllo spike positivo.

Tabella 26 Composti farmacologici analizzati per verificare l'interferenza con la quantificazione dell'RNA di HCV da parte del test **cobas® HCV**

Categoria farmacologica	Nome generico del farmaco	
Immunomodulatori	Peginterferone α -2a Peginterferone α -2b Ribavirina	
Inibitori d'ingresso dell'HIV	Maraviroc	
Inibitore dell'integrasi dell'HIV	Elvitegravir/Cobicistat	Raltegravir
Inibitori non nucleosidici della trascrittasi inversa dell'HIV	Efavirenz	Nevirapina
	Etravirina	Rilpivirina
Inibitori della proteasi dell'HIV	Atazanavir	Lopinavir
	Tipranavir	Nelfinavir
	Darunavir	Ritonavir
	Fosamprenavir	Saquinavir
Inibitori della proteasi dell'HCV	Boceprevir	Telaprevir
	Simeprevir	
Inibitori della trascrittasi inversa o della DNA polimerasi	Abacavir	Tenofovir
	Emtricitabina	Adefovir dipivoxil
	Entecavir	Zidovudina
	Foscarnet	Aciclovir
	Cidofovir	Valganciclovir
	Lamivudina	Ganciclovir
	Telbivudina	Sofosbuvir
Composti per il trattamento delle infezioni opportunistiche	Azitromicina	Pirazinamide
	Claritromicina	Rifabutina
	Etambutolo	Rifampicina
	Fluconazolo	Sulfametossazole
	Isoniazide	Trimetoprima

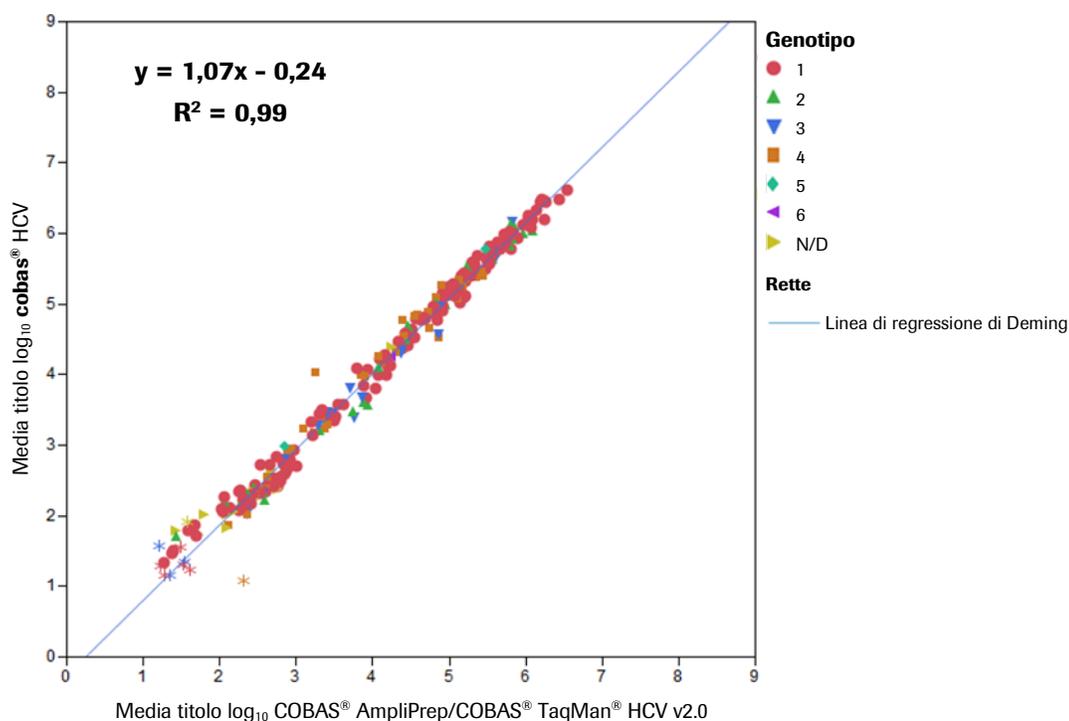
Correlazione tra i metodi

Confronto tra le prestazioni del test cobas® HCV e le prestazioni del test quantitativo COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV, v2.0

Le prestazioni del test **cobas**® HCV sono state confrontate con quelle del test quantitativo COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV v2.0 (test TaqMan® HCV v2.0) analizzando i campioni di siero e di plasma EDTA ottenuti da pazienti con infezione da HCV. In totale sono stati analizzati in duplicato 149 campioni di plasma EDTA e 122 campioni di siero rappresentativi di tutti i genotipi di HCV, ottenendo risultati validi e compresi entro l'intervallo di quantificazione dei due test. È stata applicata l'analisi di regressione di Deming. La deviazione del titolo medio dei campioni analizzati con i due test è stata di 0,02 log₁₀ (intervallo di confidenza al 95%: 0,00; 0,04).

I risultati della regressione di Deming sono riportati nella Figura 8. Il simbolo * nella Figura 8 mostra la singola misura.

Figura 8 Analisi di regressione dei campioni di plasma EDTA e siero sottoposti al test **cobas**® HCV vs il test TaqMan® HCV v2.0

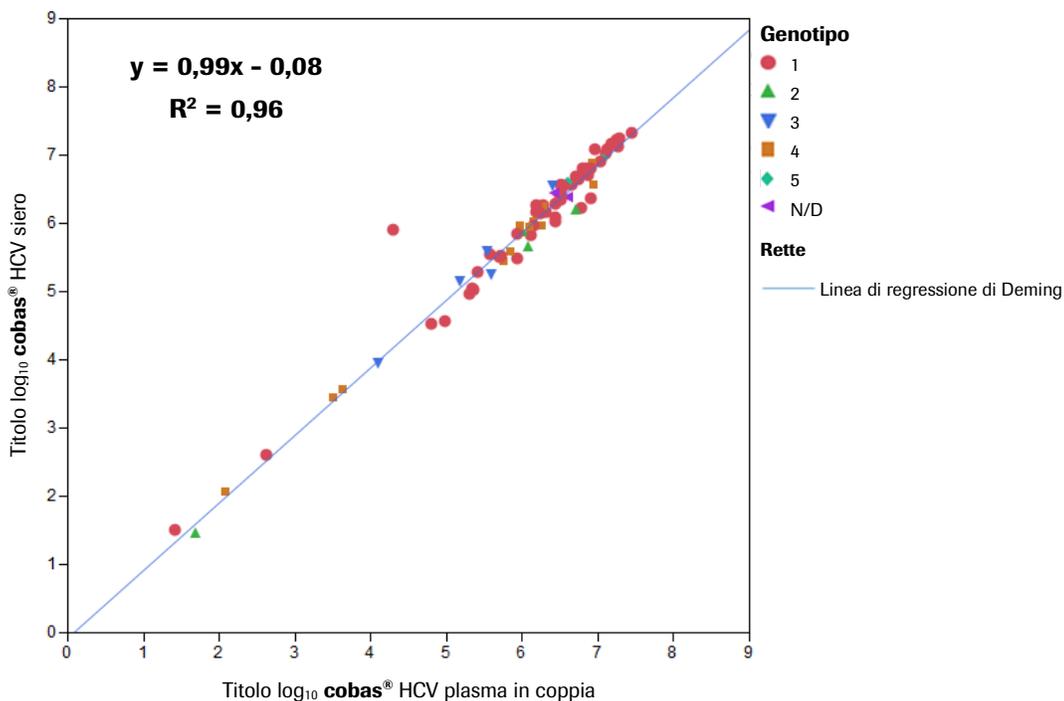


Equivalenza tra matrici - plasma EDTA e siero

L'equivalenza tra matrici è stata analizzata utilizzando 190 coppie di campioni di plasma EDTA e di siero. Di queste, 73 coppie di campioni erano HCV-positivi. I campioni HCV-positivi coprivano i genotipi 1-4 lungo l'intervallo lineare.

La deviazione del titolo medio delle coppie di campioni di plasma EDTA e di siero analizzate è stata di $-0,13 \log_{10}$ (intervallo di confidenza al 95%: $-0,19$; $-0,07$) (Figura 9).

Figura 9 Prestazioni dell'equivalenza tra matrici - plasma EDTA e siero



Tasso globale d'errore del sistema

Per quanto riguarda il test **cobas®** HCV, il tasso globale d'errore del sistema è stato calcolato ripetendo 100 test sui campioni di plasma EDTA e 100 test sui campioni di siero, arricchiti con il target HCV. I campioni sono stati analizzati a una concentrazione del target pari a circa $3 \times \text{LoD}$.

Dai risultati di questo studio si evince che tutte le ripetizioni dei test hanno prodotto risultati validi e positivi per il target HCV, per un tasso globale d'errore del sistema pari allo 0%. L'intervallo di confidenza esatto al 95% bilaterale è pari allo 0% per il limite inferiore e al 3,62% per il limite superiore per ogni matrice [0%: 3,62%].

Contaminazione crociata

Per quanto riguarda il test **cobas®** HCV, il tasso di contaminazione crociata è stato calcolato ripetendo 240 test su un campione di plasma EDTA umano normale, negativo ai virus HIV, HCV e HBV, e ripetendo 225 test su un campione HCV-positivo con alto titolo a $4,0E+07$ UI/ml. Complessivamente sono state eseguite cinque sedute con campioni positivi e negativi in una configurazione a scacchiera.

Su 240 ripetizioni dei campioni negativi, 239 sono risultate valide e negative, per un tasso di contaminazione crociata pari allo 0,42%. L'intervallo di confidenza esatto al 95% bilaterale è pari allo 0,01% per il limite inferiore e al 2,3% per il limite superiore [0%: 2,3%].

Valutazione delle prestazioni cliniche

Variabilità tra lotti e riproducibilità

La variabilità tra lotti e la riproducibilità del test **cobas**® HCV sono state valutate con il plasma EDTA sul **cobas**® 6800 System, utilizzando un modello misto per stimare la varianza totale.

I risultati sono illustrati dalla Tabella 27 alla Tabella 30, in basso.

Variabilità tra lotti

È stata testata la variabilità tra lotti per i genotipi 1-6 presso un laboratorio e utilizzando 3 lotti dei reagenti. In ogni laboratorio, 2 operatori hanno testato ogni lotto per 6 giorni. Sono state effettuate due analisi ogni giorno.

La Tabella 27 mostra le percentuali attribuibili della varianza totale, le DS dalla precisione totale e i CV log-normale per genotipo, nonché la concentrazione di RNA di HCV log₁₀ attesa sul **cobas**® 6800 System.

Tabella 27 Percentuali attribuibili della varianza totale, deviazione standard della precisione totale e CV (%) log-normale della concentrazione di RNA di HCV (log₁₀ UI/ml) per genotipo e per componente del pannello positivo sul **cobas**® 6800 System (tra lotti)

Geno- tipo	Concentrazione RNA di HCV			N. di test ^b	Contributo % a varianza totale (CV (%) log-normale)					Precisione totale	
	Attesa UI/ml	Attesa log ₁₀ UI/ml	Media ^a log ₁₀ UI/ml		Lotto	Opera- tore	Giorno	Seduta	Stessa seduta	DS ^c	CV (%) log- normale ^d
1	30	1,477	1,482	68	0% (0,00)	0% (0,00)	0% (0,00)	25% (22,14)	75% (39,26)	0,1899	45,91
	100	2,000	1,890	72	8% (10,98)	1% (3,68)	0% (0,00)	10% (12,12)	81% (35,75)	0,1672	39,97
	5000	3,699	3,457	72	0% (0,00)	0% (0,00)	0% (0,00)	82% (32,85)	18% (14,84)	0,1531	36,38
	50.000	4,699	4,443	72	3% (7,26)	0% (0,00)	0% (0,00)	86% (37,29)	11% (12,88)	0,1693	40,51
	500.000	5,699	5,552	72	0% (0,00)	0% (0,00)	0% (0,00)	83% (33,86)	17% (14,96)	0,1570	37,36
	5.000.000	6,699	6,453	71	47% (17,58)	0% (0,00)	0% (0,00)	25% (12,71)	28% (13,35)	0,1100	25,74
	50.000.000	7,699	7,103	72	54% (28,85)	0% (0,00)	0% (0,00)	24% (19,14)	22% (18,00)	0,1670	39,92

Geno- tipo	Concentrazione RNA di HCV			N. di test ^b	Contributo % a varianza totale (CV (%) log-normale)					Precisione totale	
	Attesa UI/ml	Attesa log ₁₀ UI/ml	Media ^a log ₁₀ UI/ml		Lotto	Opera- tore	Giorno	Seduta	Stessa seduta	DS ^c	CV (%) log- normale ^d
2	30	1,477	1,611	72	5% (9,52)	0% (0,00)	8% (11,25)	0% (0,00)	87% (39,60)	0,1776	42,67
	100	2,000	2,125	72	0% (0,00)	0% (0,00)	0% (0,00)	25% (12,12)	75% (21,10)	0,1047	24,47
	5000	3,699	3,714	72	9% (5,63)	0% (0,00)	0% (0,00)	47% (12,66)	44% (12,17)	0,0798	18,53
	50.000	4,699	4,743	72	0% (0,00)	0% (0,00)	0% (0,00)	54% (16,10)	46% (14,97)	0,0949	22,12
	500.000	5,699	5,806	72	7% (4,24)	0% (0,00)	0% (0,00)	22% (7,39)	71% (13,32)	0,0684	15,85
	5.000.000	6,699	6,187	72	41% (20,03)	0% (0,00)	0% (0,00)	17% (12,73)	42% (20,44)	0,1348	31,80
	50.000.000	7,699	7,080	72	40% (17,99)	1% (2,73)	0% (0,00)	0% (0,00)	59% (21,87)	0,1223	28,73
3	30	1,477	1,474	72	0% (0,00)	3% (8,35)	0% (0,00)	43% (32,35)	54% (36,31)	0,2084	50,89
	100	2,000	1,946	72	13% (13,11)	0% (0,00)	0% (0,00)	49% (25,49)	38% (22,49)	0,1562	37,16
	5000	3,699	3,636	72	14% (6,76)	0% (0,00)	0% (0,00)	27% (9,30)	59% (13,76)	0,0776	18,01
	50.000	4,699	4,597	72	0% (1,38)	0% (0,00)	0% (0,00)	52% (14,95)	47% (14,24)	0,0894	20,80
	500.000	5,699	5,504	72	0% (0,00)	1% (1,62)	0% (0,00)	43% (13,51)	57% (15,54)	0,0893	20,77
	5.000.000	6,699	6,451	72	28% (14,47)	0% (0,00)	3% (5,08)	0% (0,00)	69% (23,03)	0,1189	27,91
	50.000.000	7,699	7,149	71	21% (18,47)	0% (0,00)	8% (11,62)	0% (0,00)	71% (34,88)	0,1747	41,90
4	30	1,477	1,358	69	7% (14,37)	0% (0,00)	1% (5,44)	0% (0,00)	91% (53,25)	0,2269	56,03
	100	2,000	1,827	72	10% (9,40)	0% (0,00)	1% (2,80)	8% (8,35)	81% (27,09)	0,1283	30,21
	5000	3,699	3,416	72	20% (7,82)	0% (0,00)	0% (0,00)	42% (11,23)	38% (10,61)	0,0750	17,40
	50.000	4,699	4,405	72	22% (8,06)	0% (0,00)	0% (0,00)	13% (6,30)	65% (14,06)	0,0752	17,46
	500.000	5,699	5,069	71	5% (8,88)	0% (0,00)	24% (19,47)	13% (14,23)	57% (30,31)	0,1699	40,66
	5.000.000	6,699	6,070	72	27% (23,68)	0% (0,00)	12% (15,28)	34% (26,55)	27% (23,52)	0,1940	47,00
	50.000.000	7,699	6,930	72	37% (30,60)	0% (0,00)	22% (23,53)	11% (16,70)	30% (27,73)	0,2149	52,68

Geno-tipo	Concentrazione RNA di HCV			N. di test ^b	Contributo % a varianza totale (CV (%) log-normale)					Precisione totale	
	Attesa UI/ml	Attesa log ₁₀ UI/ml	Media ^a log ₁₀ UI/ml		Lotto	Operatore	Giorno	Seduta	Stessa seduta	DS ^c	CV (%) log-normale ^d
5	30	1,477	1,575	72	5% (8,30)	0% (0,00)	0% (0,00)	10% (11,53)	85% (35,32)	0,1611	38,42
	100	2,000	2,049	72	9% (7,51)	0% (0,00)	0% (0,00)	0% (0,00)	91% (24,38)	0,1093	25,57
	5000	3,699	3,606	72	4% (3,63)	0% (0,00)	0% (0,00)	59% (14,11)	38% (11,28)	0,0797	18,51
	50.000	4,699	4,616	72	20% (8,86)	0% (0,00)	0% (0,00)	37% (12,19)	43% (13,21)	0,0867	20,17
	500.000	5,699	5,678	72	7% (4,63)	0% (0,00)	0% (0,00)	33% (10,36)	60% (13,93)	0,0777	18,04
	5.000.000	6,699	6,505	71	54% (19,49)	0% (0,00)	19% (11,53)	0% (0,00)	27% (13,77)	0,1143	26,79
	50.000.000	7,699	7,592	72	35% (11,59)	1% (2,25)	12% (6,72)	4% (3,94)	47% (13,37)	0,0842	19,58
6	30	1,477	1,494	70	0% (0,00)	0% (0,00)	0% (0,00)	3% (7,34)	97% (47,65)	0,1990	48,33
	100	2,000	1,940	72	9% (9,29)	0% (0,00)	0% (0,00)	2% (4,14)	90% (30,32)	0,1361	32,13
	5000	3,699	3,417	72	0% (0,00)	0% (0,00)	0% (0,00)	81% (37,28)	19% (17,38)	0,1737	41,64
	50.000	4,699	4,541	72	0% (0,00)	0% (0,00)	0% (0,00)	70% (26,40)	30% (17,27)	0,1351	31,88
	500.000	5,699	5,611	72	0% (0,00)	0% (0,00)	0% (0,00)	74% (22,82)	26% (13,36)	0,1136	26,62
	5.000.000	6,699	6,414	72	49% (22,99)	0% (0,00)	9% (10,03)	16% (12,88)	26% (16,83)	0,1413	33,42
	50.000.000	7,699	7,529	71	48% (19,63)	1% (2,67)	2% (4,25)	22% (13,15)	28% (14,96)	0,1225	28,78

Nota: la tabella include soltanto i risultati con una carica virale rilevabile.

^a Calcolata mediante la procedura SAS MISTA.

^b Numero di test validi con carica virale rilevabile.

^c Calcolata a partire dalla variabilità totale ottenuta con la procedura SAS MIXED.

^d CV (%) log-normale = $\sqrt{10^{[DS^2 \times \ln(10)]} - 1} \times 100$.

CV (%) = coefficiente di variazione percentuale; HCV = virus dell'epatite C; N. = numero; RNA = acido ribonucleico; DS = deviazione standard; sqrt = radice quadrata.

Nella Tabella 28 riportata di seguito, la concordanza percentuale negativa (NPA) di cobas® 6800 System con i test dei membri del pannello negativi era del 99,54%.

Tabella 28 Concordanza percentuale negativa con il componente del pannello negativo sul cobas® 6800 System (tra lotti)

Concentrazione RNA di HCV attesa	N. di test	Risultati positivi	Risultati negativi	Concordanza percentuale negativa ^a	IC 95% ^b
Negativo	216	1	215	99,54	(97,45, 99,99)

^a Concordanza percentuale negativa = (numero di risultati negativi ÷ numero totale di test validi nel componente del pannello negativo) × 100.

^b Calcolato mediante il metodo dell'intervallo di confidenza binomiale esatto Clopper-Pearson.

IC = intervallo di confidenza; HCV = virus dell'epatite C; N. = numero; RNA = acido ribonucleico.

Riproducibilità

È stata testata la riproducibilità per i genotipi 1-3 presso 3 laboratori e utilizzando un lotto dei reagenti. Due operatori in ogni sede hanno eseguito l'analisi per 6 giorni. Sono state effettuate due analisi ogni giorno.

La Tabella 29 mostra le percentuali attribuibili della varianza totale, le DS dalla precisione totale e i CV log-normale per genotipo, nonché la concentrazione di RNA di HCV log₁₀ attesa sul cobas® 6800 System.

Tabella 29 Percentuali attribuibili della varianza totale, deviazione standard della precisione totale e CV (%) log-normale della concentrazione di RNA di HCV (log₁₀ UI/ml) per genotipo e per componente del pannello positivo sul cobas® 6800 System (riproducibilità)

Geno-tipo	Concentrazione RNA di HCV			N. di test ^b	Contributo % a varianza totale (CV (%) log-normale)					Precisione totale	
	Attesa UI/ml	Attesa log ₁₀ UI/ml	Media ^a log ₁₀ UI/ml		Sito	Operatore	Giorno	Seduta	Stessa seduta	DS ^c	CV (%) log-normale ^d
1	30	1,477	1,373	68	1% (6,43)	0%	0%	20% (25,63)	78% (52,96)	0,2437	60,84
	100	2,000	1,866	72	4% (7,25)	0%	0%	17% (15,81)	79% (34,64)	0,1644	39,24
	5000	3,699	3,466	72	0% (0,00)	0%	0%	83% (29,77)	17% (13,35)	0,1391	32,87
	50.000	4,699	4,444	72	7% (10,74)	0%	0%	83% (37,40)	9% (12,16)	0,1721	41,24
	500.000	5,699	5,579	72	4% (6,84)	0%	0%	74% (30,53)	22% (16,27)	0,1504	35,70
	5.000.000	6,699	6,439	72	52% (16,35)	9% (6,91)	0%	9% (6,74)	30% (12,36)	0,0979	22,84
	50.000.000	7,699	7,091	72	76% (45,80)	0%	0%	7% (12,87)	17% (20,92)	0,2170	53,25

Geno-tipo	Concentrazione RNA di HCV			N. di test ^b	Contributo % a varianza totale (CV (%) log-normale)					Precisione totale	
	Attesa UI/ml	Attesa log ₁₀ UI/ml	Media ^a log ₁₀ UI/ml		Sito	Operatore	Giorno	Seduta	Stessa seduta	DS ^c	CV (%) log-normale ^d
2	30	1,477	1,631	72	10% (11,41)	0% (0,00)	0% (0,00)	0% (0,00)	90% (35,77)	0,1586	37,77
	100	2,000	2,096	72	2% (3,71)	0% (0,00)	0% (0,00)	35% (14,49)	63% (19,44)	0,1057	24,70
	5000	3,699	3,699	72	4% (3,47)	0% (0,00)	0% (0,00)	49% (11,99)	47% (11,76)	0,0742	17,22
	50.000	4,699	4,745	72	0% (0,00)	0% (0,00)	0% (0,00)	59% (17,39)	41% (14,45)	0,0975	22,75
	500.000	5,699	5,824	72	19% (7,91)	0% (0,00)	0% (0,00)	24% (8,99)	57% (13,89)	0,0794	18,43
	5.000.000	6,699	6,177	72	51% (20,74)	0% (1,59)	0% (0,00)	9% (8,47)	40% (18,27)	0,1246	29,30
	50.000.000	7,699	7,069	72	17% (13,08)	0% (0,00)	0% (0,00)	0% (0,00)	83% (29,26)	0,1367	32,28
3	30	1,477	1,457	72	0% (0,00)	0% (0,00)	0% (0,00)	34% (24,33)	66% (34,06)	0,1776	42,67
	100	2,000	1,911	72	16% (13,76)	0% (0,00)	0% (0,00)	27% (18,01)	58% (26,79)	0,1504	35,70
	5000	3,699	3,628	72	10% (6,12)	0% (0,00)	0% (0,00)	18% (8,09)	71% (16,06)	0,0821	19,07
	50.000	4,699	4,587	72	2% (2,23)	0% (0,00)	0% (0,00)	55% (13,21)	44% (11,85)	0,0774	17,96
	500.000	5,699	5,524	72	0% (0,00)	0% (0,00)	0% (0,00)	44% (12,53)	56% (14,30)	0,0822	19,10
	5.000.000	6,699	6,442	71	22% (11,89)	0% (0,00)	0% (0,00)	0% (0,00)	78% (22,66)	0,1100	25,73
	50.000.000	7,699	7,109	71	10% (13,36)	0% (0,00)	21% (19,65)	0% (0,00)	69% (35,94)	0,1827	44,01

Nota: la tabella include soltanto i risultati con una carica virale rilevabile.

^a Calcolata mediante la procedura SAS MISTA.

^b Numero di test validi con carica virale rilevabile.

^c Calcolata a partire dalla variabilità totale ottenuta con la procedura SAS MIXED.

^d CV (%) log-normale = $\sqrt{10^{[DS^2 \times \ln(10)]} - 1} \times 100$.

CV (%) = coefficiente di variazione percentuale; HCV = virus dell'epatite C; N. = numero; RNA = acido ribonucleico; DS = deviazione standard; sqrt = radice quadrata.

I test del componente del pannello negativo eseguiti sul **cobas**® 6800 System hanno prodotto una CPN del 100% (Tabella 30, sotto).

Tabella 30 Concordanza percentuale negativa con il componente del pannello negativo sul **cobas**® 6800 System (riproducibilità)

Concentrazione RNA di HCV attesa	N. di test	Risultati positivi	Risultati negativi	Concordanza percentuale negativa ^a	IC 95% ^b
Negativo	108	0	108	100,00	(96,64, 100,00)

^a Concordanza percentuale negativa = (numero di risultati negativi ÷ numero totale di test validi nel componente del pannello negativo) × 100.

^b Calcolato mediante il metodo dell'intervallo di confidenza binomiale esatto Clopper-Pearson.

IC = intervallo di confidenza; HCV = virus dell'epatite C; N. = numero; RNA = acido ribonucleico.

Confronto tra i cobas® 6800 System e i cobas® 8800 System - Variabilità tra lotti e riproducibilità

Per determinare la variabilità tra lotti e la riproducibilità del test cobas® HCV sul cobas® 8800 System, è stata testata una serie di campioni identica. Le prestazioni dei due sistemi sono equivalenti. La Tabella 31 elenca le prestazioni relative alla precisione ottenute nella parte dello studio riguardante la riproducibilità, su entrambi i cobas® 6800 System e i cobas® 8800 System, lungo tutto l'intervallo lineare del test cobas® HCV.

Tabella 31 Confronto della deviazione standard della precisione per quanto riguarda la concentrazione di RNA di HCV (\log_{10} UI/ml) per i genotipi 1-3 sui cobas® 6800 System e cobas® 8800 System (riproducibilità)

Livello di concentrazione (UI/ml)	Deviazione standard della precisione ^a (N. di test ^b)					
	cobas® 6800 System			cobas® 8800 System		
	Genotipo 1	Genotipo 2	Genotipo 3	Genotipo 1	Genotipo 2	Genotipo 3
$1,0E+01 \leq X < 1,0E+02$	0,24 (68)	0,16 (72)	0,18 (72)	0,23 (47)	0,14 (48)	0,17 (47)
	0,16 (72)		0,15 (72)	0,15 (47)		0,17 (48)
$1,0E+02 \leq X < 1,0E+03$	-	0,11 (72)	-	-	0,12 (48)	-
$1,0E+03 \leq X < 1,0E+04$	0,14 (72)	0,07 (72)	0,08 (72)	0,13 (48)	0,07 (48)	0,08 (48)
$1,0E+04 \leq X < 1,0E+05$	0,17 (72)	0,10 (72)	0,08 (72)	0,11 (48)	0,06 (48)	0,08 (48)
$1,0E+05 \leq X < 1,0E+06$	0,15 (72)	0,08 (72)	0,08 (72)	0,11 (48)	0,07 (47)	0,10 (48)
$1,0E+06 \leq X < 1,0E+07$	0,10 (72)	0,12 (72)	0,11 (71)	0,09 (48)	0,13 (48)	0,11 (48)
$1,0E+07 \leq X < 1,0E+08$	0,22 (72)	0,14 (72)	0,18 (71)	0,16 (48)	0,10 (48)	0,19 (48)

Nota: il raggruppamento delle precisioni osservate in base ai livelli di concentrazione si basa sui risultati mediani dei test sulla scala non trasformata (UI/ml). la tabella include soltanto i risultati con una carica virale rilevabile. DS = deviazione standard.

Il segno “-” indica che non ci sono risultati applicabili per quel livello.

^a Deviazione standard della precisione in unità \log_{10}

^b Numero di test validi con carica virale rilevabile.

Utilità clinica

L'obiettivo dello studio era valutare la capacità del test di predire l'esito clinico.

Il Piano di cura 1 includeva quattro protocolli terapeutici basati su una combinazione di farmaci DAA con o senza interferone pegilato (PegIFN) e ribavirina (RBV). I soggetti, che erano infettati con il genotipo 1 dell'HCV, avevano risposto in modo parziale o non avevano risposto affatto ad un precedente ciclo di terapia combinata pegIFN/RBV.

Il Piano di cura 2 comprendeva soggetti infettati con il genotipo 2 o 3, naïf al trattamento, che sono stati sottoposti ad un ciclo di terapia combinata pegIFN/RBV.

I test cobas® HCV sono stati eseguiti presso 4 laboratori. In 3 laboratori è stato utilizzato un cobas® 6800 System. In 2 laboratori è stato utilizzato un cobas® 8800 System. In un laboratorio sono stati utilizzati entrambi i cobas® 6800 System e 8800 System. Nell'ambito dello studio sono stati utilizzati tre lotti di kit di reagenti; ogni campione è stato analizzato con un lotto del kit.

La Tabella 32 che segue mostra le caratteristiche anagrafiche e i valori di partenza dei soggetti i cui campioni sono stati testati sui cobas® 6800 System e cobas® 8800 System. La maggioranza dei soggetti era di sesso maschile, sopra ai 40 anni

di età, con infezione da genotipo 1 dell'HCV. Sono stati arruolati soggetti con infezione da genotipi 1, 2 e 3 dell'HCV. L'infezione da genotipi 4, 5 e 6 dell'HCV è rara negli USA.

Tabella 32 Caratteristiche anagrafiche e valori di partenza dei soggetti per i cobas® 6800 System e cobas® 8800 System

Caratteristiche	cobas® 6800 System		cobas® 8800 System	
	Statistiche	Soggetti	Statistiche	Soggetti
Totale	N	401	N	353
Piano di cura				
1	n (%)	307 (76,6%)	n (%)	287 (81,3%)
2	n (%)	94 (23,4%)	n (%)	66 (18,7%)
Fascia d'età (anni)				
< 40	n (%)	90 (22,4%)	n (%)	81 (22,9%)
≥ 40	n (%)	311 (77,6%)	n (%)	272 (77,1%)
Età (anni)				
	Media ± DS	49 ± 11,1	Media ± DS	49 ± 11,2
	Mediana	52	Mediana	52
	Intervallo	20-76	Intervallo	20-71
Sesso				
Maschio	n (%)	276 (68,8%)	n (%)	245 (69,4%)
Femmina	n (%)	125 (31,2%)	n (%)	108 (30,6%)
Razza/Etnia				
Asiatico	n (%)	3 (0,7%)	n (%)	2 (0,6%)
Afro-americano	n (%)	13 (3,2%)	n (%)	12 (3,4%)
Bianco/caucasico	n (%)	357 (89,0%)	n (%)	318 (90,1%)
Altra	n (%)	28 (7,0%)	n (%)	21 (5,9%)
Genotipo				
1A	n (%)	174 (43,4%)	n (%)	159 (45,0%)
1B	n (%)	133 (33,2%)	n (%)	128 (36,3%)
Totale 1	n (%)	307 (76,6%)	n (%)	287 (81,3%)
2	n (%)	31 (7,7%)	n (%)	22 (6,2%)
3	n (%)	63 (15,7%)	n (%)	44 (12,5%)
Totale non-1	n (%)	94 (23,4%)	n (%)	66 (18,7%)
RNA di HCV di partenza (log₁₀ UI/ml)				
	Media ± DS	6,32 ± 0,58	Media ± DS	6,33 ± 0,56
	Mediana	6,41	Mediana	6,41
	Intervallo	2,57-7,52	Intervallo	2,77-7,52
Categoria RNA di HCV ai valori di partenza				
< 400.000 UI/ml	n (%)	36 (9,0%)	n (%)	32 (9,1%)
≥ 400.000 UI/ml	n (%)	363 (90,5%)	n (%)	304 (86,1%)
Mancante	n (%)	2 (0,5%)	n (%)	17 (4,8%)

HCV = virus dell'epatite C; RNA = acido ribonucleico; DS = deviazione standard.

Previsione della risposta alla terapia antivirale

Sono state determinate le caratteristiche delle prestazioni del test per i soggetti trattati con certi protocolli DAA. Non sono disponibili informazioni sul valore predittivo del test quando vengono utilizzate altre terapie combinate DAA.

Definizioni:

- Carica virale (*Viral Load*: VL) Settimana 2 = RNA di HCV < LLoQ = LoD = 15 UI/ml nella Settimana 2 della terapia antivirale
- VL Settimana 2: RNA di HCV < LoD = LLoQ di 15 UI/ml
- VL Settimana 4: RNA di HCV < LLoQ nella Settimana 4 della terapia antivirale
- VL Settimana 8: RNA di HCV < LLoQ nella Settimana 8 della terapia antivirale
- VL Settimana 12: o un calo almeno di 2 log₁₀ nel livello di RNA di HCV rispetto al valore di partenza, o un RNA di HCV < LLoQ nella Settimana 12 della terapia antivirale
- VL Settimana 24 (Fine del trattamento [*End of Treatment*: EOT]): RNA di HCV < LLoQ nella Settimana 24 della terapia antivirale.
- Risposta virologica sostenuta (SVR12): RNA di HCV < LLoQ nella Settimana 12 al termine della terapia antivirale, misurato con un test dell'RNA di HCV indipendente.

Valore predittivo della Risposta Virologica (*Virological Response*: VR) per il successo della terapia antivirale

In questo studio, il valore predittivo positivo (PPV) per la VL della Settimana 4 per prevedere SVR12 è stato del 78,1% (IC al 95%: 72,7-82,8%) nei soggetti con genotipo 1 e dell'84,7% (IC al 95%: 73,5-91,8%) nei soggetti con genotipi non 1 (Tabella 33). Di conseguenza, la VR nella Settimana 4 misurata dal test **cobas**® HCV è stata un predittore utile di SVR12.

Per il Piano di cura 1, in rappresentanza di un protocollo contenente DAA, una VL della Settimana 12 o una VL della Settimana 24 sul test **cobas**® HCV prevede la SVR12 nei soggetti con genotipo 1, rispettivamente con PPV del 77,0% e del 78,6%. L'assenza di VL nella Settimana 12 o di VL nella Settimana 24 non prevede nessuna risposta, con valori predittivi negativi (NPV) rispettivamente dell'87,5% e del 100% (Tabella 33). L'analisi aggiuntiva della VL nella Settimana 2 per predire una SVR12 mostra un PPV del 79,4%, ma un NPV basso, del 29,9%.

Nel Piano di cura 2, la VL nella Settimana 12 ottenuta eseguendo il test **cobas**® HCV per il genotipo 2 e 3 era predittiva di una SVR12, con un PPV del 75,3%. Data la rarità della non risposta, l'assenza di VL nella Settimana 12 non è una misura utile dell'esito in questa popolazione. L'NPV era del 50% e il numero di soggetti che non hanno risposto era troppo piccolo in questo studio (Tabella 33).

Nel complesso, questo studio ha dimostrato l'utilità clinica del test **cobas**® HCV e conferma l'importanza di continuare la valutazione delle risposte dell'RNA di HCV nelle Settimane 4, 12 e 24 nei pazienti in cura per infezione cronica da HCV.

Tabella 33 Probabilità di ottenere una risposta virologica sostenuta (SVR12), data la risposta virologica (< 15 UI/ml) in occasione di una visita specifica in corso di trattamento, per il **cobas®** 6800 System

				PPV (%)		NPV (%)		OR
Piano di cura	Genotipo	Visita in corso di trattamento	Soggetti idonei	Stima (IC al 95%)	n/N	Stima (IC al 95%)	n/N	Stima (IC al 95%)
1	1	Settimana 2	290	79,4 (71,5, 85,5)	100/126	29,9 (23,4, 37,3)	49/164	1,64 (0,95, 2,83)
		Settimana 4	290	78,1 (72,7, 82,8)	200/256	50,0 (34,1, 65,9)	17/34	3,57 (1,71, 7,45)
		Settimana 8	285	76,8 (71,5, 81,4)	212/276	66,7 (35,4, 87,9)	6/9	6,63 (1,61, 27,24)
		Settimana 12	286	77,0 (71,7, 81,5)	214/278	87,5 (52,9, 97,8)	7/8	23,41 (2,83, 193,80)
		Settimana 24	282	78,6 (73,4, 83,0)	217/276	100,0 (61,0, 100,0)	6/6	47,52 (2,64, 855,66)
2	Non 1	Settimana 4	82	84,7 (73,5, 91,8)	50/59	47,8 (29,2, 67,0)	11/23	5,09 (1,72, 15,04)
		Settimana 12	83	75,3 (64,9, 83,4)	61/81	50,0 (9,5, 90,5)	1/2	3,05 (0,18, 51,04)

Note: valore predittivo positivo (PPV) = $TP \div (TP + FP)$ o probabilità di essere una SVR12, dato che il soggetto presentava una risposta virale in occasione di una visita specifica. Si ottiene una SVR12 se il soggetto presenta una concentrazione di RNA di HCV < 15 UI/ml, a distanza di 12 settimane dall'ultima dose.

Valore predittivo negativo (NPV) = $TN \div (FN + TN)$ o probabilità di non essere una SVR12, dato che il soggetto non presentava una risposta virale in occasione di una visita specifica.

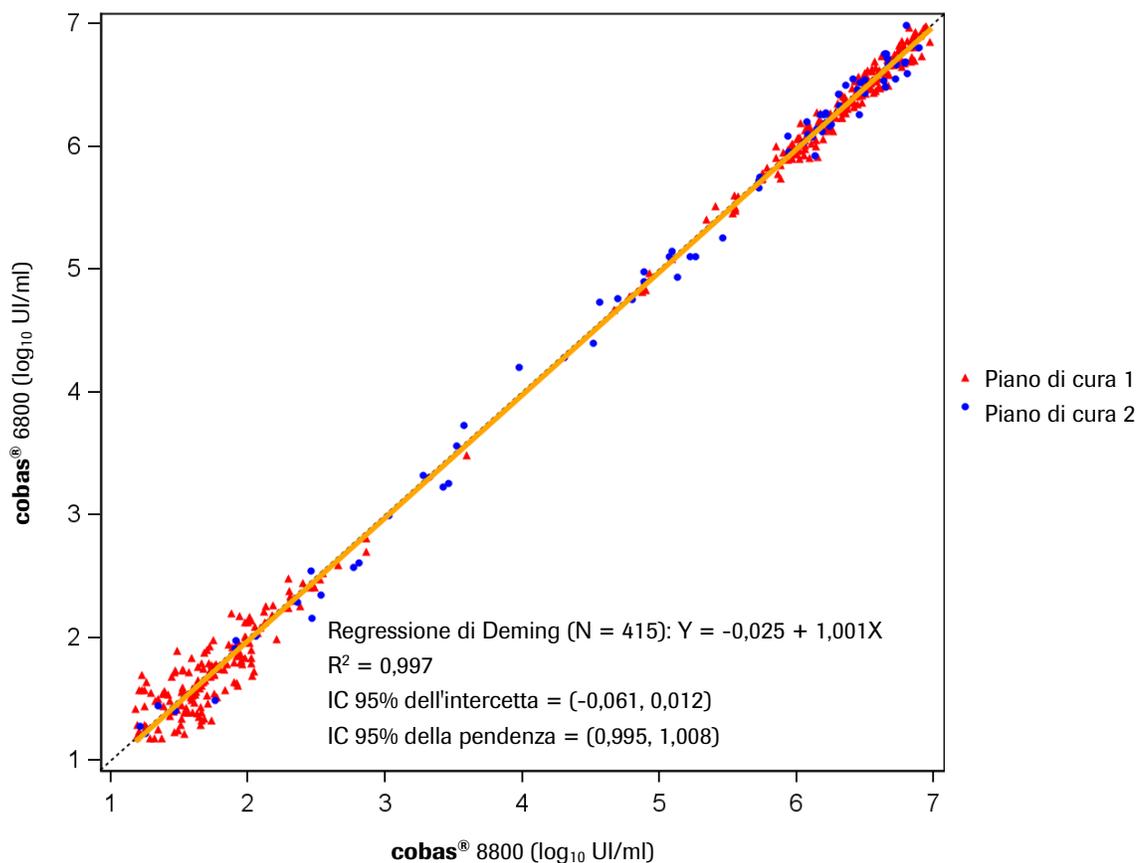
Rapporto di probabilità (*Odds Ratio*, OR) = $(TP \times TN) \div (FP \times FN)$.

IC = intervallo di confidenza; FN = falso negativo; FP = falso positivo; HCV = virus dell'epatite C; SVR12 = risposta virologica sostenuta 12 settimane dopo l'ultima dose; TN = vero negativo; TP = vero positivo.

Confronto tra i cobas® 6800 System e i cobas® 8800 System - Utilità clinica

Per determinare l'utilità clinica del test cobas® HCV sul cobas® 8800 System, è stata testata una serie di campioni identica. I sistemi dimostrano prestazioni fortemente correlate, prive di differenze significative. La Figura 10 che segue mostra i diagrammi di regressione di Deming delle cariche virali (\log_{10} UI/ml) maggiori di 15 UI/ml, in tutti i punti temporali applicabili nel corso della terapia.

Figura 10 Diagramma di regressione lineare di Deming delle cariche virali (\log_{10} UI/ml) dai valori di partenza, Settimana 2 e Settimana 4 (cobas® 6800 System vs cobas® 8800 System)



IC = intervallo di confidenza.

Utilità diagnostica

L'obiettivo dello studio era valutare la capacità del test di diagnosticare correttamente i soggetti positivi per gli anticorpi anti-HCV con infezione da HCV attiva.

La Tabella 34 che segue mostra le caratteristiche anagrafiche e i valori di partenza dei soggetti i cui campioni sono stati testati sul cobas® 6800 System e sul cobas® 8800 System.

Tabella 34 Caratteristiche anagrafiche e valori di partenza in base al sistema (soggetti positivi per gli anticorpi anti-HCV)

Caratteristiche	cobas® 6800 System	cobas® 8800 System
N. totale	235	230
Condizione clinica		
Positivo per anticorpi anti-HCV^a, n (%)		
Positivo per RNA di HCV	154 (65,5%)	150 (65,2%)
Negativo per RNA di HCV	81 (34,5%)	80 (34,8%)
Età (anni)		
Media ± DS	48 ± 11,9	49 ± 11,9
Mediana	50	50
Intervallo	20-88	20-88
Sesso, n (%)		
Maschio	132 (56,2%)	127 (55,2%)
Femmina	103 (43,8%)	103 (44,8%)
Razza, n (%)		
Nero/afro-americano	49 (20,9%)	48 (20,9%)
Bianco/caucasico	183 (77,9%)	179 (77,8%)
Altra	3 (1,3%)	3 (1,3%)
Fattore di rischio, n (%)		
Solo Baby Boomer (anno di nascita: 1945-1965)	114 (48,5%)	112 (48,7%)
Solo consumatori IVD	22 (9,4%)	22 (9,6%)
Baby Boomer e consumatori IVD	23 (9,8%)	22 (9,6%)
Non divulgati, positivi per anticorpo anti-HCV*	76 (32,3%)	74 (32,2%)

^a Il risultato del test VERSANT HCV è stato utilizzato per determinare lo stato dell'RNA di HCV. Per i soggetti il cui risultato del test VERSANT HCV non era disponibile, è stato utilizzato il risultato del test APTIMA HCV. Se non era disponibile un risultato né per il test Versant, né per il test Aptima, è stato utilizzato il risultato del test COBAS® AMPLICOR® HCV v2.0.

* “Non divulgati”: sono inclusi i soggetti per i quali entrambi i fattori di rischio mancano o hanno valore “No”, oppure quelli per i quali un fattore di rischio manca e l'altro ha valore “No”.

APTIMA = Aptima HCV RNA Qualitative Assay; HCV = virus dell'epatite C; IVD = Intravenous Drug Use (sostanze iniettate per endovena).

DS = deviazione standard; VERSANT = VERSANT HCV RNA Qualitative Assay.

La sensibilità del test **cobas**® HCV è stata valutata nei soggetti che in precedenza erano stati esposti all'HCV ed erano risultati positivi per gli anticorpi anti-HCV su entrambi i **cobas**® 6800/8800 Systems (Tabella 35). La concordanza tra i risultati del test **cobas**® HCV e lo stato dell'infezione nel paziente è stata determinata utilizzando un cutoff < 25 UI/ml, per verificare l'assenza di infezione da HCV attiva (Tabella 35).

Tabella 35 Concordanza tra i risultati del test **cobas**® HCV eseguito sul **cobas**® 6800 System e sul **cobas**® 8800 System e lo stato dell'infezione nel paziente, con cutoff pari a 25 UI/ml

cobas ® HCV	Stato dell'infezione nel paziente					
	cobas ® 6800 System			cobas ® 8800 System		
	Positivo per HCV	Negativo per HCV	Totale	Positivo per HCV	Negativo per HCV	Totale
RNA di HCV rilevato al di sopra di 25 UI/ml	152	0	152	149	1	150
RNA di HCV non rilevato o rilevato al di sotto di 25 UI/ml	0	81	81	0	79	79
Totale	152	81	233	149	80	229
Concordanza percentuale positiva (IC al 95%)	100,0% (97,5, 100,0)	NA	NA	100,0% (97,5, 100,0)	NA	NA
Concordanza percentuale negativa (IC al 95%)	NA	100,0% (95,5, 100,0)	NA	NA	98,8% (93,3, 99,8)	NA

Nota: in questa tabella sono inclusi solo i risultati validi del test **cobas**® HCV tra i campioni positivi per gli anticorpi anti-HCV.

IC = intervallo di confidenza; **cobas**® HCV = **cobas**® HCV per l'uso sui **cobas**® 6800/8800 Systems; HCV = virus dell'epatite C; NA = non applicabile.

Questo studio dimostra l'utilità clinica del test **cobas**® HCV per diagnosticare correttamente i soggetti con infezione da RNA di HCV attiva in corso, distinguendoli dai soggetti con infezioni non attive, in una popolazione con precedente esposizione all'HCV (positività sierologica per gli anticorpi anti-HCV).

Reattività crociata nei soggetti con epatopatie non correlate all'HCV

La reattività crociata del test **cobas**® HCV è stata valutata con campioni che rappresentavano una gamma di epatopatie la cui causa di fondo non era un'infezione da HCV attiva. È stata dimostrata la capacità del test **cobas**® HCV di determinare l'assenza di infezione da HCV attiva nei soggetti affetti da una gamma di epatopatie di origine diversa dall'HCV (Tabella 36, Tabella 37, Tabella 38).

Tabella 36 Caratteristiche anagrafiche e valori di partenza in base al sistema

Caratteristiche	cobas® 6800 System	cobas® 8800 System
N. totale	247	181
Condizione clinica		
Negativo per RNA di HCV, n (%)		
Epatopatie associate all'alcolismo	33 (13,4%)	20 (11,0%)
Epatite autoimmune	37 (15,0%)	32 (17,7%)
HBV cronica	30 (12,1%)	30 (16,6%)
Steatosi epatica	66 (26,7%)	38 (21,0%)
Steatoepatite non alcolica (NASH)	41 (16,6%)	30 (16,6%)
Cirrosi aspecifica	6 (2,4%)	3 (1,7%)
Cirrosi biliare primaria	33 (13,4%)	28 (15,5%)
Sconosciuto ^a	1 (0,4%)	
Età (anni)		
Media ± DS	54 ± 13,1	54 ± 13,5
Mediana	56	56
Intervallo	20-81	20-81
Sesso, n (%)		
Maschio	71 (28,7%)	44 (24,3%)
Femmina	104 (42,1%)	74 (40,9%)
Sconosciuto	72 (29,1%)	63 (34,8%)
Razza, n (%)		
Asiatico	11 (4,5%)	1 (0,6%)
Nero/afro-americano	13 (5,3%)	11 (6,1%)
Bianco/caucasico	70 (28,3%)	48 (26,5%)
Altra	7 (2,8%)	1 (0,6%)
Sconosciuto	146 (59,1%)	120 (66,3%)
Baby Boomer (anno di nascita: 1945-1965), n (%)		
Sì	80 (32,4%)	63 (34,8%)
No	64 (25,9%)	53 (29,3%)
Non divulgati	103 (41,7%)	65 (35,9%)

Tabella 37 Numero di campioni negativi per l'RNA di HCV sul **cobas®** 6800 System, con epatopatie non correlate all'HCV, nell'ambito delle categorie dei risultati dei test in base alla condizione clinica

Condizione clinica	Numero di test validi					Totale	Specificità ^a % (IC 95%) ^b
	Target Not Detected	< 1,50E+01 UI/ml	1,50E+01 ≤ x < 2,50E+01 UI/ml	2,50E+01 ≤ x ≤ 1,00E+08 UI/ml	> 1,00E+08 UI/ml		
Epatopatie associate all'alcolismo	33	0	0	0	0	33	100,0 (89,4, 100,0)
Epatite autoimmune	37	0	0	0	0	37	100,0 (90,5, 100,0)
HBV cronica	30	0	0	0	0	30	100,0 (88,4, 100,0)
Steatosi epatica	66	0	0	0	0	66	100,0 (94,6, 100,0)
NASH	40	1*	0	0	0	41	97,6 (87,1, 99,9)
Cirrosi aspecifica	6	0	0	0	0	6	100,0 (54,1, 100,0)
Cirrosi biliare primaria	33	0	0	0	0	33	100,0 (89,4, 100,0)
Totale	245	1*	0	0	0	246	99,6 (97,8, 100,0)

Nota: in questa tabella sono inclusi solo i risultati validi del test **cobas®** HCV tra i campioni negativi per gli anticorpi anti-HCV (epatopatia non correlata all'HCV). È stato escluso l'unico soggetto affetto da steatosi epatica.

^a Specificità clinica: percentuale del numero di risultati negativi per l'RNA, rispetto ai campioni negativi per gli anticorpi anti-HCV tra i risultati del test validi.

^b IC 95%: intervallo di confidenza al 95% esatto.

* Campione classificato come < LLOQ, RNA di HCV rilevato a ~1,5 UI/ml.

IC = intervallo di confidenza; HBV = virus dell'epatite B; HCV = virus dell'epatite C; NASH = steatoepatite non alcolica.

Tabella 38 Numero di campioni negativi per l'RNA di HCV sul **cobas**® 8800 System, con epatopatie non correlate all'HCV, nell'ambito delle categorie dei risultati dei test in base alla condizione clinica

Condizione clinica	Numero di test validi					Totale	Specificità ^a % (IC 95%) ^b
	Target Not Detected	< 1,50E+01 UI/ml	1,50E+01 ≤ x < 2,50E+01 UI/ml	2,50E+01 ≤ x ≤ 1,00E+08 UI/ml	> 1,00E+08 UI/ml		
Epatopatie associate all'alcolismo	20	0	0	0	0	20	100,0 (83,2, 100,0)
Epatite autoimmune	32	0	0	0	0	32	100,0 (89,1, 100,0)
HBV cronica	30	0	0	0	0	30	100,0 (88,4, 100,0)
Steatosi epatica	38	0	0	0	0	38	100,0 (90,7, 100,0)
NASH	30	0	0	0	0	30	100,0 (88,4, 100,0)
Cirrosi aspecifica	3	0	0	0	0	3	100,0 (29,2, 100,0)
Cirrosi biliare primaria	28	0	0	0	0	28	100,0 (87,7, 100,0)
Totale	181	0	0	0	0	181	100,0 (98,0, 100,0)

Nota: in questa tabella sono inclusi solo i risultati validi del test **cobas**® HCV tra i campioni negativi per gli anticorpi anti-HCV (epatopatia non correlata all'HCV).

^a Specificità clinica: percentuale del numero di risultati negativi per l'RNA, rispetto ai campioni negativi per gli anticorpi anti-HCV tra i risultati dei test validi.

^b IC 95%: intervallo di confidenza al 95% esatto.

IC = intervallo di confidenza; HBV = virus dell'epatite B; HCV = virus dell'epatite C; NASH = steatoepatite non alcolica.

Confronto tra i **cobas**® 6800 System e i **cobas**® 8800 System - Diagnosi

Per confermare la presenza di un'infezione da HCV attiva, è stato testato un sottogruppo di campioni con il test **cobas**® HCV sul **cobas**® 8800 System. Anche per una serie di epatopatie la cui causa di fondo non era un'infezione da HCV attiva, la specificità del test **cobas**® HCV è stata del 100%. La concordanza tra i risultati del test **cobas**® HCV sul **cobas**® 8800 System e lo stato infettivo del paziente, determinata utilizzando un cutoff < 25 UI/ml per verificare l'assenza di infezione da HCV attiva, è stata del 99,6%. Questi risultati indicano che i **cobas**® 6800 System e i **cobas**® 8800 System sono equivalenti per quanto riguarda la diagnosi di infezione HCV attiva utilizzando il test **cobas**® HCV.

Conclusioni

Il test **cobas**® HCV è in grado di quantificare il livello di RNA di HCV, per valutare la terapia e predire la risposta alla terapia antivirale. I risultati di questo studio dimostrano l'utilità clinica di questo test per determinare la risposta precoce in corso di trattamento nella gestione dei pazienti con infezione cronica da HCV.

Inoltre il test **cobas**® HCV può coadiuvare la diagnosi di infezione da HCV attiva nei pazienti positivi per gli anticorpi anti-HCV.

Equivalenza dei sistemi / confronto tra sistemi

L'equivalenza tra i cobas® 5800, cobas® 6800 e cobas® 8800 Systems è stata dimostrata attraverso alcuni studi sulle prestazioni. I risultati presentati nelle Istruzioni per l'uso dimostrano l'equivalenza delle prestazioni tra tutti i sistemi.

Informazioni supplementari

Caratteristiche del test

Tipo di campione	Plasma EDTA, siero
Quantità minima di campione richiesta	650 µl o 350 µl
Volume di analisi del campione	500 µl o 200 µl
Sensibilità analitica	15 UI/ml (500 µl) 40 UI/ml (200 µl)
Intervallo lineare	500 µl: 15 UI/ml - 1,0E+08 UI/ml 200 µl: 40 UI/ml - 1,0E+08 UI/ml
Specificità	100% (intervallo di confidenza al 95% unilaterale: 99,5%)
Genotipi identificati	Genotipi di HCV 1-6

Simboli

I seguenti simboli appaiono su tutte le confezioni dei prodotti diagnostici PCR di Roche.

Tabella 39 Simboli utilizzati sulle etichette dei prodotti diagnostici PCR di Roche

 Age/DOB Età o data di nascita	 Dispositivo non idoneo ai test POC	 QS IU/PCR UI QS per reazione PCR; utilizzare le unità internazionali (UI) QS per la reazione PCR nel calcolo dei risultati.
 SW Software ausiliario	 Dispositivo non idoneo all'autodiagnosi	 SN Numero di serie
 Assigned Range [copies/mL] Intervallo assegnato (copies/mL)	 Distributore <i>(Nota: il paese e/o la regione applicabili potrebbero essere indicati sotto il simbolo.)</i>	 Site Sito
 Assigned Range [IU/mL] Intervallo assegnato (UI/mL)	 Non riutilizzare	 Procedure Standard Procedura standard
 EC REP Mandatario nella Comunità Europea	 Femmina	 STERILE EO Sterilizzazione con ossido di etilene
 BARCODE Foglio di dati del barcode	 Solo per valutazione delle prestazioni IVD	 Conservare al buio
 LOT Codice del batch	 GTIN Global Trade Item Number	 Limiti di temperatura
 Rischio biologico	 Importatore	 TDF File di definizione del test
 REF Numero di catalogo	 IVD Dispositivo medico-diagnostico <i>in vitro</i>	 Alto
 CE Contrassegno di conformità CE: questo dispositivo è conforme ai requisiti pertinenti del marchio CE relativamente ai dispositivi medico-diagnostici <i>in vitro</i>	 LLR Limite inferiore dell'intervallo assegnato	 Procedure UltraSensitive Procedura ultrasensibile
 Collect Date Data di raccolta	 Maschio	 UDI Identificazione univoca del dispositivo
 Consultare le istruzioni per l'uso	 Fabbricante	 ULR Limite superiore dell'intervallo assegnato
 Σ Contenuto sufficiente per <n> test	 CONTROL - Controllo negativo	 Urine Fill Line Riga di riempimento urina
 CONTENT Contenuto del kit	 NON STERILE Non sterile	 Rx Only Solo USA: la legge federale statunitense limita la vendita di questo dispositivo ai medici o su presentazione di prescrizione medica.
 CONTROL Controllo	 ? Nome del paziente	 Utilizzare entro la data
 Data di produzione	 # Numero del paziente	
 Dispositivo idoneo ai test POC	 Staccare qui	
 Dispositivo idoneo all'autodiagnosi	 CONTROL + Controllo positivo	
	 QS copies / PCR Copie QS per reazione PCR; usare le copie QS per reazione PCR nel calcolo dei risultati.	

Assistenza tecnica

Per richiedere assistenza tecnica, contattare la nostra filiale locale:
https://www.roche.com/about/business/roche_worldwide.htm

Produttore e importatore

Tabella 40 Produttore e importatore



Roche Molecular Systems, Inc.
1080 US Highway 202 South
Branchburg, NJ 08876 USA
www.roche.com

Made in USA



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
68305 Mannheim, Germany

Marchi e brevetti

Vedere <https://diagnostics.roche.com/us/en/about-us/patents>

Copyright

©2022 Roche Molecular Systems, Inc.



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Str. 116
68305 Mannheim
Germany



Bibliografia

1. Farci P, Choo QL, Kuo G, Weiner AJ, Overby LR, Bradley DW, Houghton M. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome [Science 1989;244:359-362]. *J Hepatol.* 2002;36:582-5. PMID: 11983439.
2. Armstrong GL, Wasley A, Simard EP, et al. The prevalence of hepatitis C virus infection in the United States, 1999 through 2002. *Ann Intern Med.* 2006;144:705-14. PMID: 16702586.
3. Rustgi VK. The epidemiology of hepatitis C infection in the United States. *J Gastroenterol.* 2007;42:513-21. PMID: 17653645.
4. Lauer GM, Walker BD. Hepatitis C virus infection. *N Engl J Med.* 2001;345:41-52. PMID: 11439948.
5. McHutchison JG, Gordon SC, Schiff ER, et al. Interferon alfa-2b alone or in combination with ribavirin as initial treatment for chronic hepatitis C. Hepatitis Interventional Therapy Group. *N Engl J Med.* 1998;339:1485-92. PMID: 9819446.
6. Davis GL, Esteban-Mur R, Rustgi V, et al. Interferon alfa-2b alone or in combination with ribavirin for the treatment of relapse of chronic hepatitis C. International Hepatitis Interventional Therapy Group. *N Engl J Med.* 1998;339:1493-9. PMID: 9819447.
7. Manns MP, McHutchison JG, Gordon SC, et al. Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for initial treatment of chronic hepatitis C: a randomised trial. *Lancet.* 2001;358:958-65. PMID: 11583749.
8. Fried MW, Shiffman ML, Reddy KR, et al. Peginterferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection. *N Engl J Med.* 2002;347:975-82. PMID: 12324553.
9. Hadziyannis SJ, Sette H, Jr., Morgan TR, et al. Peginterferon-alpha2a and ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C: a randomized study of treatment duration and ribavirin dose. *Ann Intern Med.* 2004;140:346-55. PMID: 14996676.
10. Ghany MG, Strader DB, Thomas DL, Seeff LB. Diagnosis, management, and treatment of hepatitis C: an update. *Hepatology.* 2009;49:1335-74. PMID: 19330875.
11. Ghany MG, Nelson DR, Strader DB, Thomas DL, Seeff LB. An update on treatment of genotype 1 chronic hepatitis C virus infection: 2011 practice guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases. *Hepatology.* 2011;54:1433-44. PMID: 21898493.
12. Poordad F, McCone J, Jr., Bacon BR, et al. Boceprevir for untreated chronic HCV genotype 1 infection. *N Engl J Med.* 2011;364:1195-206. PMID: 21449783.
13. Jacobson IM, McHutchison JG, Dusheiko G, et al. Telaprevir for previously untreated chronic hepatitis C virus infection. *N Engl J Med.* 2011;364:2405-16. PMID: 21696307.
14. Bacon BR, Gordon SC, Lawitz E, et al. Boceprevir for previously treated chronic HCV genotype 1 infection. *N Engl J Med.* 2011;364:1207-17. PMID: 21449784.

15. Zeuzem S, Andreone P, Pol S, et al. Telaprevir for retreatment of HCV infection. *N Engl J Med*. 2011;364:2417-28. PMID: 21696308.
16. Lawitz E, Mangia A, Wyles D, et al. Sofosbuvir for previously untreated chronic hepatitis C infection. *N Engl J Med*. 2013;368:1878-87. PMID: 23607594.
17. Jacobson IM, Gordon SC, Kowdley KV, et al. Sofosbuvir for hepatitis C genotype 2 or 3 in patients without treatment options. *N Engl J Med*. 2013;368:1867-77. PMID: 23607593.
18. Liang TJ, Ghany MG. Current and future therapies for hepatitis C virus infection. *N Engl J Med*. 2013;368:1907-17. PMID: 23675659.
19. Rutter K, Hofer H, Beinhardt S, et al. Durability of SVR in chronic hepatitis C patients treated with peginterferon- α 2a/ribavirin in combination with a direct-acting anti-viral. *Aliment Pharmacol Ther*. 2013;38:118-23. PMID: 23710895.
20. Longo MC, Berninger MS, Hartley JL. Use of uracil DNA glycosylase to control carry-over contamination in polymerase chain reactions. *Gene*. 1990;93:125-8. PMID: 2227421.
21. Savva R, McAuley-Hecht K, Brown T, Pearl L. The structural basis of specific base-excision repair by uracil-DNA glycosylase. *Nature*. 1995;373:487-93. PMID: 7845459.
22. Mol CD, Arvai AS, Slupphaug G, et al. Crystal structure and mutational analysis of human uracil-DNA glycosylase: structural basis for specificity and catalysis. *Cell*. 1995;80:869-78. PMID: 7697717.
23. Higuchi R, Dollinger G, Walsh PS, Griffith R. Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences. *Biotechnology (N Y)*. 1992;10:413-7. PMID: 1368485.
24. Heid CA, Stevens J, Livak KJ, Williams PM. Real time quantitative PCR. *Genome Res*. 1996;6:986-94. PMID: 8908518.
25. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th ed. <https://www.cdc.gov/labs/pdf/CDC-BiosafetyMicrobiologicalBiomedicalLaboratories-2009-P.PDF>. Accessed December 2, 2020.
26. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections. Approved Guideline-Fourth Edition. https://clsi.org/media/1459/m29a4_sample.pdf. Accessed December 2, 2020.

Revisione del documento

Informazioni sulla revisione del documento	
Doc Rev. 3.0 09/2022	<p>Aggiornamento della prima pagina, della Tabella 2 e della Tabella 3 con inserimento dei numeri di parte (P/N) dei kit di controllo.</p> <p>Aggiornamento della sezione Marchi e brevetti, collegamento incluso.</p> <p>Per ulteriori domande e chiarimenti, è possibile rivolgersi al rappresentante Roche locale.</p>